Aus der Hautklinik der Universität Düsseldorf
(Direktor: Prof. Dr. G. Plewig)

Formalin-Induzierte Fluoreszenz als diagnostisches Hilfsmittel für die Beurteilung von Malignen Melanomen und Naevuszellnaevi

Dissertation
zur Erlangung des Grades eines Doktors der Zahnmedizin

Der Medizinischen Fakultät der Universität Düsseldorf
vorgelegt von
Helga Röttgen

Düsseldorf 1983

Aus der Hautklinik der Universität Düsseldorf
(Direktor: Prof. Dr. G. Plewig)

Formalin-Induzierte Fluoreszenz als diagnostisches Hilfsmittel für die Beurteilung von Malignen Melanomen und Naevuszellnaevi

Dissertation
zur Erlangung des Grades eines Doktors der Zahnmedizin

Der Medizinischen Fakultät der Universität Düsseldorf
vorgelegt von
Helga Röttgen

Düsseldorf 1983

Gedruckt mit Genehmigung der Medizinischen Fakultät
der Universität Düsseldorf

Der Dekan
der Medizinischen Fakultät
der Universität Düsseldorf

gez.: Prof. Dr. H. BRÜSTER

Referent
gez.: Prof. Dr. R. HAENSCH

Korreferent
gez.: Prof. Dr. F. BORCHARD

Meinen Eltern in Dankbarkeit gewidmet

I N H A L T S V E R Z E I C H N I S

		Seite
1.	E I N L E I T U N G	1
1.1.	ERLÄUTERUNG DES THEMAS	1
1.2.	BESCHREIBUNG DER FLUORESZIERENDEN SUBSTANZEN	2
1.3.	MELANIN-BIOSYNTHESE	4
1.4.	KLASSIFIKATION DER MELANOME UND NAEVUSZELLNAEVI	5
1.4.1.	Das Melanom	5
1.4.2.	Der Naevuszellnaevus	8
2.	M E T H O D I K	10
2.1.	HERSTELLEN DER PRÄPARATE	10
2.2.	AUFBAU DES MIKROSKOPS	10
2.3.	UNTERSUCHUNGSGUT	11
3.	E R G E B N I S S E	12
3.1.	NORMALE HAUT	12
3.2.	BEOBACHTUNGEN AN MELANOMEN	14
3.2.1.	Das oberflächlich spreitende Melanom	14
3.2.2.	Das noduläre Melanom	29
3.3.	BEOBACHTUNGEN AN NAEVUSZELLNAEVI	38
3.3.1.	Junktionsnaevus	38
3.3.2.	Compoundnaevus	40
3.3.3.	Corealer Naevus	45
4.	D I S K U S S I O N	48
5.	Z U S A M M E N F A S S U N G	62
6.	L I T E R A T U R	64
	DANKSAGUNG	
	LEBENSLAUF	

1. EINLEITUNG

1.1. ERLÄUTERUNG DES THEMAS

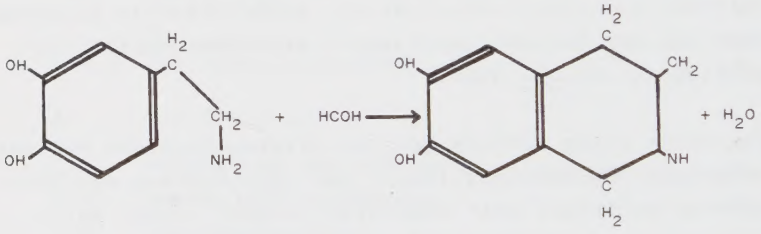
Die Formalin-induzierte Fluoreszenz-Methode, die bei histologischen Untersuchungen des zentralen und peripheren Nervensystems zu den bedeutungsvollen diagnostischen Hilfsmitteln zählt (FALCK et al. 1966), kann in gleichem Maße bei der Darstellung Pigment-bildender Zellen entscheidende Impulse geben.

Inwieweit diese Methode bei der Untersuchung von malignen Melanomen und Naevuszellnaevi zur Verbesserung der Diagnostik beiträgt, soll Gegenstand dieser Arbeit sein.

Während es sich beim malignen Melanom um einen bösartigen Tumor epidermaler Melanozyten handelt (CLARK et al. 1969), liegt beim Naevuszellnaevus eine gutartige Vermehrung fehlgebildeter Melanozyten, der sogenannten Naevuszellen, vor. Beiden Überschußbildungen gemeinsam ist die Zunahme Pigment-bildender Zellen, das heißt von Zellen, die für die Biosynthese des Melanins verantwortlich sind und demzufolge biogene Monoamine für die Melaninsynthese beinhalten. Diese biogenen Monoamine weisen die von FALCK 1962 beschriebene Fluoreszenz auf und sollen auf diesem Wege die exakte Darstellung von Melanom- und Naevuszellen ermöglichen.

1.2. BESCHREIBUNG DER FLUORESZIERENDEN SUBSTANZEN

Mit Hilfe der fluoreszenz-histochemischen Darstellung biogener Monoamine (FALCK und HILLARP) erfuhr insbesondere die Erforschung des zentralen und peripheren Nervensystems einen erheblichen Aufschwung (FALCK et al. 1962). FALCK fand nämlich in Laboratoriumsuntersuchungen heraus, daß Katecholamine sich in leicht saurem Milieu mit Formaldehyd verbinden, wobei Tetrahydroisoquinolin-Derivate entstehen (Abb. 1).



3,4-Dihydroxyphenyl-äthylamin (DOPAmin)

6,7-Dihydroxy-1,2,3,4-tetra-hydroisoquinolin

Abb. 1:
Chemische Formel der Entstehung eines Tetrahydroisoquinolin-Derivats.

Diese Tetrahydroisoquinolin-Derivate zeigen eine spezifische gelb-grüne Fluoreszenz.

Darüberhinaus stellte FALCK fest, daß für die Affinität des Formaldehyds zum entsprechenden Katecholamin zwei Voraussetzungen vorhanden sein müssen:
Zum einen muß es sich um primäre Amine handeln,
zum anderen sind Hydroxylgruppen am C-Atom 3 und 4 Voraussetzung. Das trifft für Dihydroxyphenylalanin (DOPA), 3,4-Dihydroxyphenyläthylamin und Nordadrenalin zu. Diese Substanzen zeigen eine besonders intensive Fluoreszenz, wohingegen Adre-

nalin ein sekundäres Amin ist und trotz der Hydroxylgruppen in Position 3 und 4 eine langsamere Reaktion mit Formaldehyd und eine wesentlich schwächere Fluoreszenz aufweist (Abb. 2 a und b).

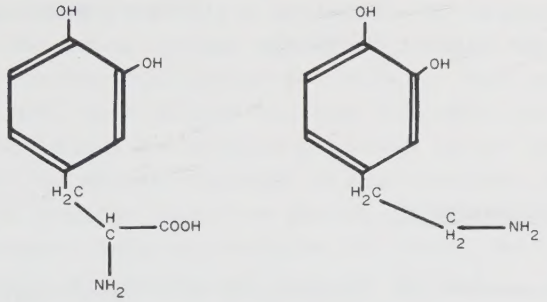


Abb. 2 a:
Chemische Formel von DOPA und DOPAmin.

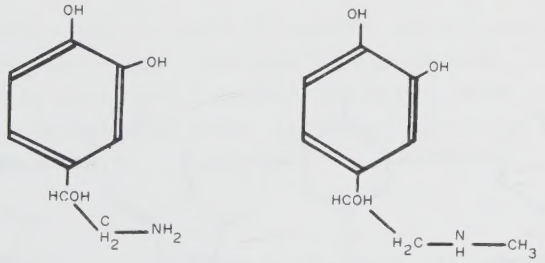


Abb. 2 b:
Chemische Formel von Noradrenalin und Adrenalin.

So gelang es FALCK, mit Hilfe der Formaldehyd-Reaktion zwischen Noradrenalin und Adrenalin in bestimmten Bereichen des zentralen und peripheren Nervensystems zu unterscheiden.

Basierend auf der Tatsache, daß die Melanin-Synthese über das Zwischenprodukt DOPA abläuft, wurde die Formaldehyd-Reaktion im Anschluß an die bei der Erforschung des zentralen und peripheren Nervensystems erzielten Ergebnisse zur Diagnostik von Pigment-bildenden Tumoren angewandt (FALCK et al. 1966)

3. MELANIN-BIOSYNTHESE

An den Ribosomen der Melanozyten wird Tyrosinase gebildet, welche in den Golgi-Apparat transportiert wird und folgende, in Abb. 3 dargestellte Reaktion in Gang setzt (EDER und GEDIGK 1977):

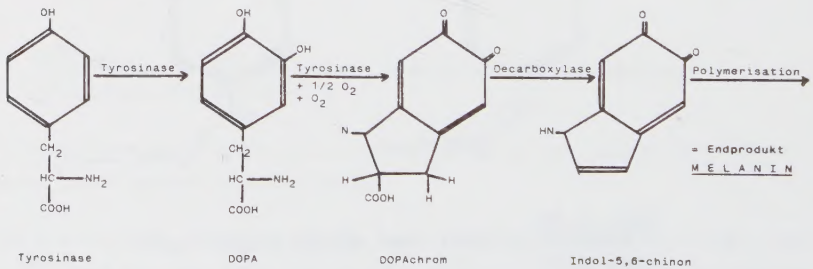


Abb. 3:
Reaktion bei der Melanin-Biosynthese.

Die Melanin-Granula werden von den Melanozyten bzw. Naevuszellen an benachbarte Zellen abgegeben.
Die physiologische Melanin-Bildung wird hormonell durch Melanozyten-stimulierendes Hormon (MSH) und Melatonin reguliert (BUDDECKE 1977).

Auf vier bis zehn Basalzellen der normalen Haut entfällt ein Melanozyt. Beim Melanom und beim Naevuszellnaevus liegt eine Zunahme der Melanin-bildenden Zellen vor; darüber hinaus ist die Melanin-Synthese in der einzelnen Zelle gesteigert. Bedingt durch die gesteigerte Melanin-Synthese liegen vermehrt Melanin-Vorstufen vor (DOPA), woraus sich die intensive Fluoreszenz im UV-Licht erklärt.

1.4. KLASSIFIKATION DER MELANOME UND NAEVUSZELLNAEVI

Vorausgeschickt seien die kurz in unseren Untersuchungen einbezogenen Melanom- und Naevuszellnaevus-Formen, wie sie insbesondere durch die Arbeiten von CLARK, MIHM und McGOVERN, BRESLOW und REED heute allgemein anerkannt sind.

1.4.1. Das Melanom

Beim Melanom handelt es sich um einen Tumor aus fehlgebildeten Melanozyten. Es kann überall dort entstehen, wo Melanozyten vorliegen.

CLARK unterscheidet in seiner Klassifizierung drei Melanom-Typen, die aufgrund des ihnen eigenen Ausbreitungsmodus einen unterschiedlichen Malignitätsgrad besitzen und demzufolge prognostisch einzustufen sind:

a) das oberflächlich spreitende Melanom (SSM),
b) das noduläre Melanom (NM),
c) das Lentigo-maligna-Melanom (LMM).
REED grenzt darüber hinaus das akral-lentiginöse Melanom ab, das als eine Variante ausschließlich an den Palmar- und Plantarflächen lokalisiert ist.

zu a):

Das oberflächlich spreitende Melanom breitet sich über einen relativ langen Zeitraum oberflächlich, d.h. im Bereich der Epidermis, aus und wächst erst allmählich in die Tiefe (Abb. 4). Der Monomorphismus der Tumorzellen und deren Anordnung in Nestern zeichnen das oberflächlich spreitende Melanom aus.

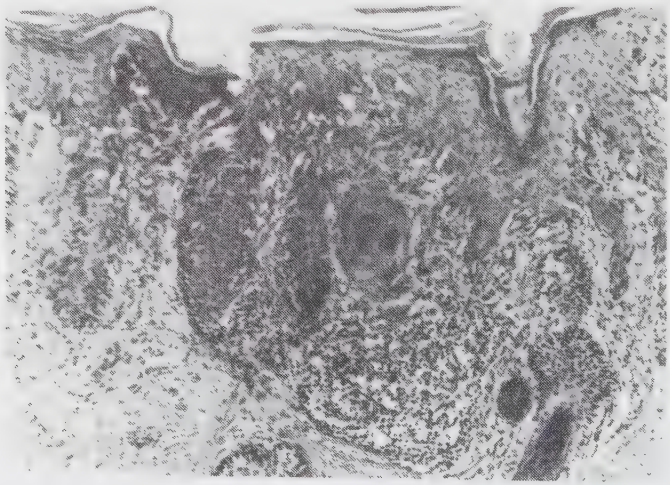


Abb. 4:
Melanom-Zellen eines oberflächlich spreitenden Melanoms sowohl in der Epidermis als auch im Corium.
Die Zellen erscheinen in Form und Größe ziemlich ähnlich. In der Umgebung liegen zahlreiche Entzündungszellen.

Zu b):

Noduläre Melanome wachsen primär stark endophytisch und infiltrierend und breiten sich in den tieferen Schichten der Haut (Stratum papillare, Stratum reticulare) aus. Wegen der geringen Infiltration der Epidermis werden sie meist erst dann bemerkt, wenn sie sich schon im Level III, Level IV (Abb. 5) und V befinden.

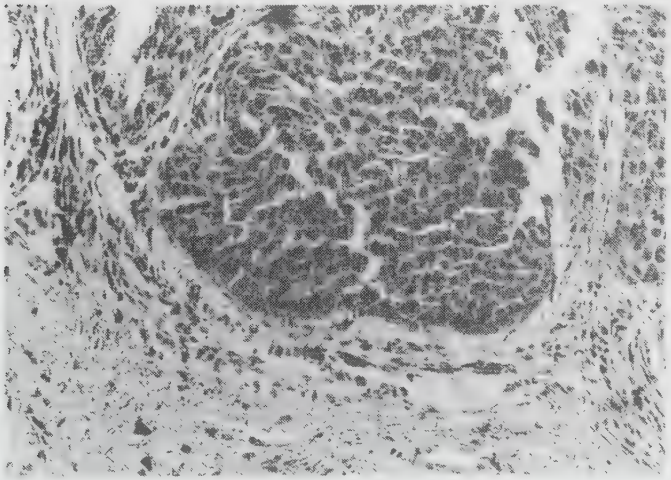


Abb. 5:
Noduläres Melanom Level IV.
Der untere Tumorrand befindet sich im Stratum reticulare. Neben der dichten Ansammlung von Tumorzellen beobachtet man nur wenige Lymphozyten.

Nach der Einteilung von CLARK (1969) unterscheidet man weiterhin fünf Eindringtiefen:

Level I : Der Tumor beschränkt sich auf die Epidermis. Man spricht auch von einem "Melanoma in situ".
Level II : Der Tumor ist bereits bis ins Stratum papillare vorgedrungen.
Level III: Die Tumorzellen befinden sich bereits am Übergang vom Stratum papillare zum Stratum reticulare.
Level IV : Hierbei ist auch das Stratum reticulare schon von Tumorzellen durchsetzt.
Level V : Der Tumor hat sich bereits bis in die Subcutis ausgedehnt.

BRESLOW beurteilt die Prognose eines malignen Melanoms nach der "maximalen Tumordicke". Diese maximale Tumordicke ist definiert als die Entfernung in Millimeter zwischen dem Stratum granulosum und den am tiefsten vorgedrungenen Tumorzellen.

SCHMOECKEL betrachtet zur Beurteilung der Prognose eines malignen Melanoms die mitotische Aktivität des Tumors in Verbindung mit der Tumordicke. Das Produkt aus Tumordicke und mitotischer Aktivität faßt er als den "prognostischen Index" zusammen. Die mitotische Aktivität wird wiedergegeben durch den "mitotischen Index", der definiert ist als die größte Anzahl von Mitosen pro mm^2.

1.4.2. Der Naevuszellnaevus

Der Naevuszellnaevus ist gekennzeichnet durch die sogenannten Naevuszellen, die - ebenso wie die Melanozyten - dem Neuroektoderm entstammen. Es handelt sich um polygonale, sehr

regelmäßige Zellen, die ihrer engen Beziehung zu den Melanozyten nicht zuletzt dadurch Ausdruck verleihen, daß sie ebenfalls zur Melanin-Synthese befähigt sind.

Es lassen sich drei verschiedene Formen des Naevuszellnaevus unterscheiden:

a) Junktionsnaevus,
b) Compoundnaevus,
c) corealer Naevus.

zu a):
Beim Junktionsnaevus befinden sich die Naevuszellen ausschließlich in der Epidermis und an der Basalmembran. Das Corium ist unauffällig. Einige Naevuszellen können zwar an der unteren Epidermisgrenze liegen, sind jedoch dann immer noch durch Zellkontakt mit dieser verbunden. Die Naevuszellen haben in der Regel eine gleichmäßige kubische Form.

zu b):
Beim Compoundnaevus befinden sich die Naevuszellen sowohl in der Epidermis als auch im Corium, d.h. sie sind von der Epidermis ins obere Corium abgetropft. Oft ist der Anteil der epidermalen Zellnester größer als der der corealen. Die tiefer gelegenen Zellen besitzen meist weniger Melanin.

zu c):
Beim corealen Naevus befinden sich die Naevuszellen ausschließlich im Corium. Während sie im oberen Corium in Nestern und Strängen angeordnet sind und kubische Gestalt aufweisen, liegen sie im tiefen Corium vereinzelt zwischen kollagenen und elastischen Fasern. Auch hier nimmt die Intensität der Melanin-Pigmentierung mit zunehmender Tiefe meist ab.

2. METHODIK

2.1. HERSTELLEN DER PRÄPARATE

Die frisch entnommenen Excisionen wurden zu 1 bis 1,5 mm dicken Blöcken zurechtgeschnitten und sofort in flüssigem Stickstoff eingefroren. Sie blieben für drei Tage bei -40°C im "Edwards Gefriertrockner" liegen. Anschließend wurden sie im Exsiccator bei Zimmertemperatur innerhalb von drei Stunden dreimal mit Formaldehyd bedampft.[1)]

Nun wurden die Präparate unter Vakuum in Paraffin eingebettet. Es wurden daraufhin 10 µ dicke Schnitte angefertigt, bei Zimmertemperatur in Paraffinöl aufgezogen und eingedeckt. Die Schnitte wurden bis zum Mikroskopieren bei -30°C aufbewahrt. Einige Präparate wurden vor der Verdampfung eine halbe Stunden lang mit Ozon bedampft.

Von allen Präparaten wurden außerdem Schnitte mit Haematoxylin-Eosin und nach MASSON und HAMPERL gefärbt.

2.2. AUFBAU DES MIKROSKOPS

Die Beurteilung der Präparate und der fluoreszenz-mikroskopischen Aufnahmen erfolgte mit einem Universalmikroskop (ZEISS) mit Auflicht-Fluoreszenzeinrichtung.

---

1) Anm.: Das Formaldehyd befand sich zuvor in einem Exsiccator, der bei 80°C in einem Brutschrank aufbewahrt wurde.

Filterkombination: Schott BG 12 und K 530, dichromatischer Teilerspiegel Nr. 3. Durch diese Kombination kommt eine gelb-grüne Fluoreszenz zustande.

2.3. UNTERSUCHUNGSGUT

Untersucht wurden 30 maligne Melanome; dabei handelte es sich bei 17 Präparaten um oberflächlich spreitende Melanome und bei 13 Präparaten um noduläre Melanome. Lentigo-maligna-Melanome und akro-lentiginöse Melanome standen für diese Untersuchungen nicht zur Verfügung.

Des weiteren wurden 25 Naevuszellnaevi der Untersuchung unterzogen. Es handelt sich dabei um sieben Junktionsnaevi, zehn Compoundnaevi und acht coreale Naevi.

3. ERGEBNISSE

3.1. NORMALE HAUT

Die Epidermis zeigt nahezu keine Fluoreszenz und ermöglicht kaum Differenzierungen. Lediglich das Stratum corneum zeigt eine gelbe Eigenfluoreszenz (Abb. 6). Im Be-

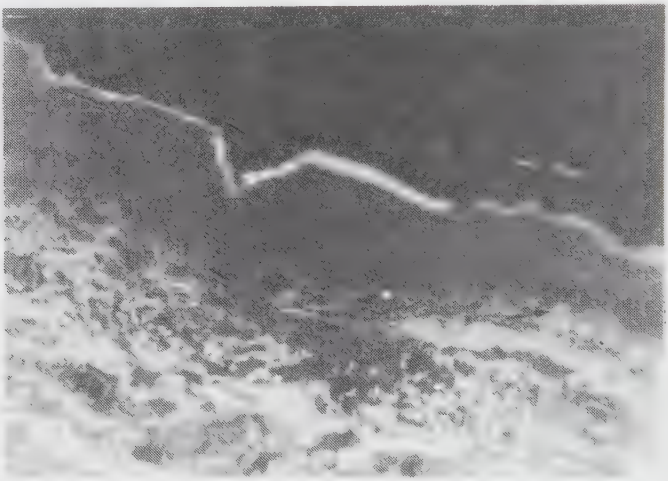


Abb. 6:
Normale Haut im Fluoreszenzmikroskop. Intensive Fluoreszenz des Stratum corneum und des Coriums. Einzelne Melanozyten (s. Pfeile) fluoreszieren.

reich des Coriums weisen die kollagenen und elastischen Fasern eine grüne Spontanfluoreszenz auf. Zellstrukturen sind hingegen nicht wahrnehmbar (Abb. 6 und 7). Die Melaningranula erscheinen als dunkle, nicht fluoreszierende

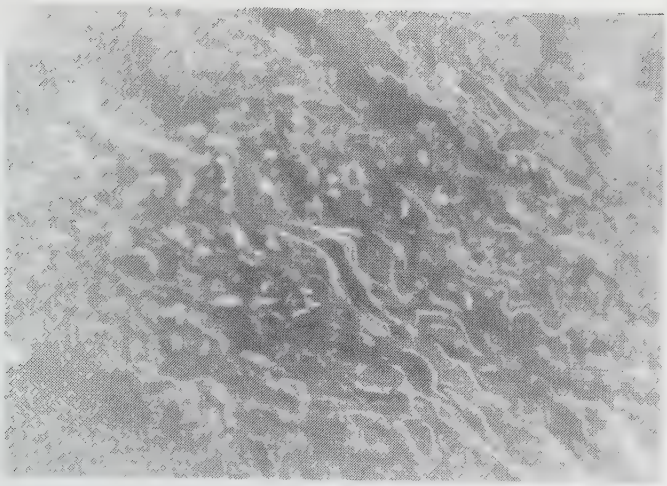


Abb. 7:
Coreales Bindegewebe mit starker, grünlicher Fluoreszenz der kollagenen und elastischen Fasern.
Zellstrukturen treten durch fehlende Fluoreszenz in der Hintergrund.

Körnchen. Die Melanozyten im Stratum basale zeigen eine schwach gelbliche Fluoreszenz (Abb. 6, s. S. 12). Ansonsten ist der Übergang von der Epidermis zum Corium deutlich erkennbar dadurch, daß die übrigen epidermalen Anteile keine Fluoreszenz aufweisen.

Von den dicht aneinandergelagerten epidermalen Zellen ist jeweils nur der als dunkler Punkt erscheinende Zellkern sichtbar.

3.2. BEOBACHTUNGEN AN MELANOMEN

3.2.1. Das oberflächlich spreitende Melanom

Der Anteil des Tumors, der sich auf die Epidermis beschränkt, zeigt eine sehr deutlich gelbe Fluoreszenz (Abb. 8, 10 a und b, 11 a und b).

Abb. 8:
Oberflächlich spreitendes Melanom, das die Basalmembran zu großen Teilen noch nicht durchbrochen hat.
Im unteren Bereich der Epidermis ist die Fluoreszenz so intensiv, daß einzelne Zellen nicht mehr zu erkennen sind.

Einzelne Tumorzellen sind im allgemeinen scharf gegeneinander abgegrenzt. Sie sind durch ein ziemlich uniformes Aussehen gekennzeichnet (Abb. 9 a und b). Man beobachtet sowohl

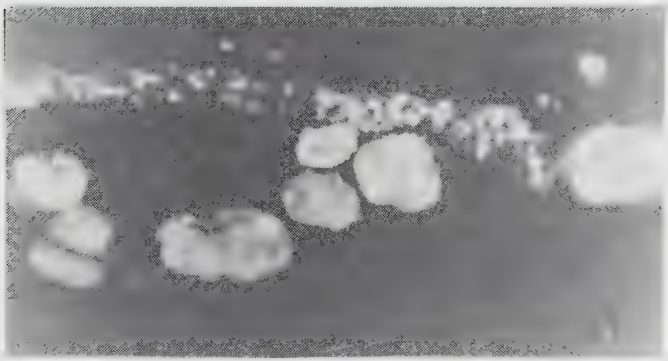


Abb. 9 a:
Oberflächlich spreitendes Melanom, das sich von der Epidermis ins Corium ausbreitet.
Die Fluoreszenz läßt mit der Eindringtiefe nach. Es liegen sowohl Tumorzellnester als auch einzelne Tumorzellen vor. Die einzelnen Tumorzellen erscheinen in ihrem Aussehen sehr ähnlich.

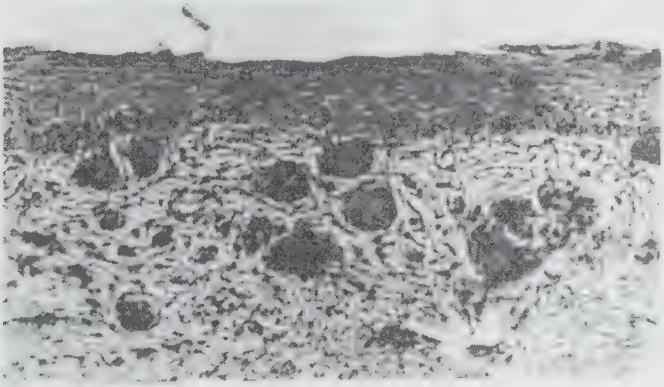


Abb. 9 b:
Lichtmikroskopische Darstellung desselben Ausschnitts.

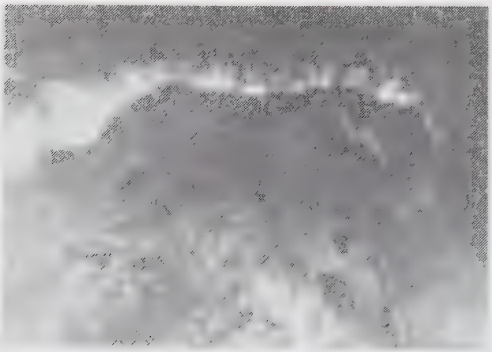


Abb. 10 a:
Das oberflächlich spreitende Melanom beschränkt sich noch auf die Epidermis, entsprechend scharf ist der Übergang zum Corium.
Konglomerate von Tumorzellen befinden sich vor allem in den unteren Epidermispartien.

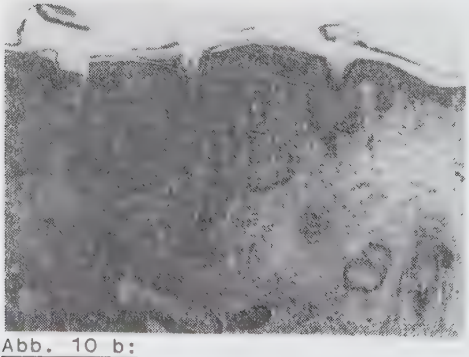


Abb. 10 b:
Lichtmikroskopische Darstellung desselben Ausschnitts.
Auffallend sind hierbei die massiven lymphohistiozytären Infiltrate, die in Abb. 7 a überhaupt nicht zur Geltung kommen.

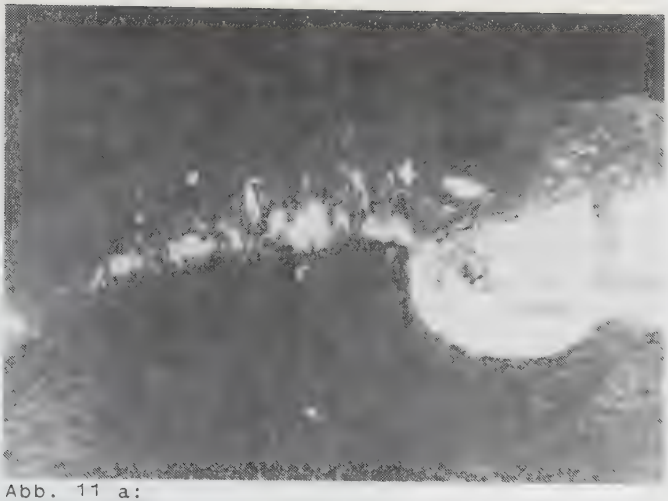


Abb. 11 a:
Das oberflächlich spreitende Melanom hat die Basalmembran bereits an einigen Stellen durchbrochen.
Man findet Tumorzellen im oberen Corium. Die intensive Fluoreszenz im rechten Bildanteil läßt die Zellmorphologie in den Hintergrund treten.

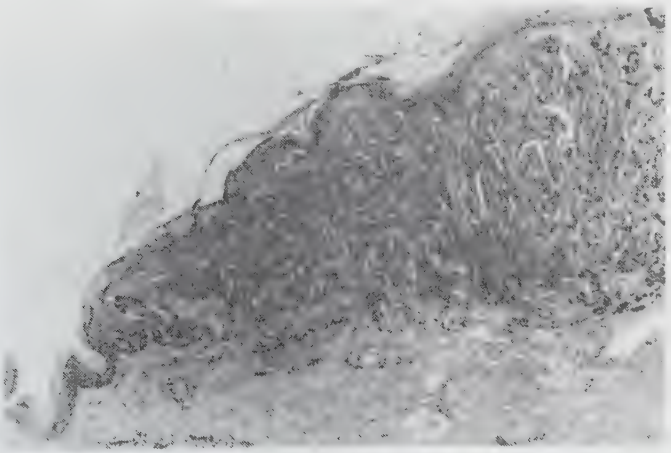


Abb. 11 b:
Lichtmikroskopische Darstellung desselben Ausschnitts.
Einzelne Tumorzellen lassen sich nicht mit der gleichen Genauigkeit feststellen wie in Abb. 11 a. Es überwiegen wiederum lymphohistiozytäre Infiltrate.

Nester von Tumorzellen als auch einzelne Zellen, die eine etwas schwächere Fluoreszenz aufweisen. Liegen die Tumorzellen in sehr großer Anzahl sehr dicht nebeneinander, so ist wegen der starken Fluoreszenz die Gestalt der einzelnen Zelle oft nicht zu erkennen (Abb. 8, 10 a und b, 11 a und b), statt dessen beobachtet man nur eine uniform fluoreszierende Fläche.

Die ansonsten gut voneinander zu unterscheidenden Tumorzellen sind von runder oder ovaler Form, zeigen eine glatte Begrenzung und sind gekennzeichnet durch einen großen, nicht fluoreszierenden Zellkern.

In den Bereichen, in denen der Tumor die Basalmembran noch nicht durchbrochen hat, ist die Abgrenzung gegenüber dem Corium gestochen scharf dargestellt (Abb. 8 und 10 a). Die Basalmembran scheint eine stabilere Barriere zu sein, die erst dann durchbrochen wird, wenn sie genügend Tumorzellen im Stratum basale angesammelt haben.

Ist die Basalmembran erst einmal durchbrochen, so findet man einzelne Tumorzellnester sowie auch Tumorzellverbände im oberen Corium (Abb. 9 a und b, 11 a und b). In den meisten Fällen verringert sich die Intensität der Fluoreszenz mit Zunahme der Eindringtiefe, d.h. je tiefer die Tumorzellen sich im Corium befinden, desto weniger sind sie aufgrund der nachlassenden Fluoreszenz nachzuweisen (Abb. 9 a und 12 a).

Dies gilt jedoch nicht für alle oberflächlich spreitenden Melanome. In Abb. 11 a lassen sich selbst weit vorgedrungene Tumorzellen durch intensive Fluoreszenz nachweisen, die keinesfalls schwächer ist als im Stratum basale.

Abb. 12 a:
Oberflächlich spreitendes Melanom, das bereits weit ins tiefe Corium vorgedrungen ist. Einzelne Tumorzellen heben sich am unteren Bildrand noch schattenhaft ab.

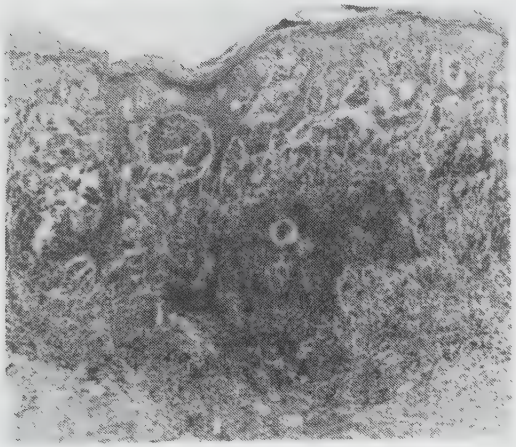


Abb. 12 b:
Lichtmikroskopische Darstellung desselben Ausschnitts.
Es sind nicht alle Tumorzellnester nachweisbar, da sie zum Teil von den zahlreich vorhandenen Lymphozyten überlagert sind.

Die Abb. 12 a und b geben ein anschauliches Beispiel dafür, daß bei entsprechender Eindringtiefe keine genaue Aussage mehr über Struktur und Aussehen einer Tumorzelle gemacht werden kann. Während man im Stratum papillare das zapfenförmige Vordringen der Tumorzellnester noch deutlich erkennen kann, heben sich die tiefer gelegenen Nester kaum noch von der Umgebung ab. In unserem Untersuchungsgut befand sich jedoch kein Tumor, dessen Zellen nicht reagierten. Anzumerken ist hier noch, daß sich mit der Intensität der Fluoreszenz auch die Farbe der Tumorzellen ändert: Die anfangs stark gelbe Fluoreszenz verwandeltsich einen einen schwach grünen Farbton.

Die lymphohistiozytäre Infiltration, die man meist in der Nachbarschaft der Tumorzellen antrifft und die im Haematoxylin-Eosin-Präparat häufig zur Unsichtbarkeit derselben führt, wirkt sich fluoreszenzmikroskopisch nicht nachteilig aus. Selbst die von Lymphozyten überlagerten Tumorzellen sind eindeutig nachweisbar (Abb. 12 a und b, 13 a und b, 14 a und b).

Dadurch lassen sich genauere Angaben über die Invasionstiefe machen, weil im Lichtmikroskop bei starker lymphohistiozytärer Infiltration häufig tief im Corium liegende Tumorzellen überdeckt sind und deshalb nicht aufgefunden werden können.

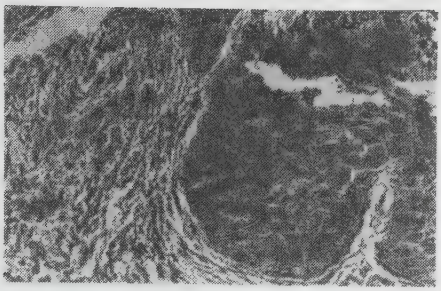


Abb. 13 a:
Kleinere Tumorzellnester, die die Basalmembran bereits durchbrochen haben, sind im Haematoxylin-Eosin-Präparat infolge der "Maskierung" durch Lymphozyten nicht nachweisbar.

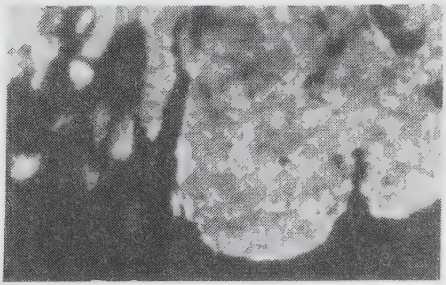


Abb. 13 b:
Fluoreszenzmikroskopische Darstellung desselben Ausschnitts. Auch kleine Tumorzellnester, die die Basalmembran bereits durchbrochen haben, sind gut nachweisbar.

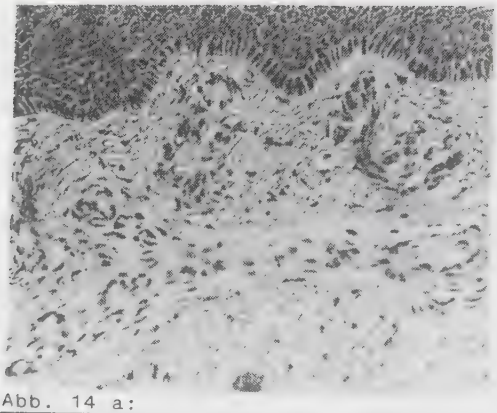


Abb. 14 a:
Ausschnitt aus einem Haematoxylin-Eosin-Präparat eines oberflächlich spreitenden Melanoms, das bereits ins Corium eingedrungen ist.
Die Epidermis scheint kaum verändert. Lymphohistiozytäre Infiltrate lassen nahezu keine Tumorzelle erkennen.

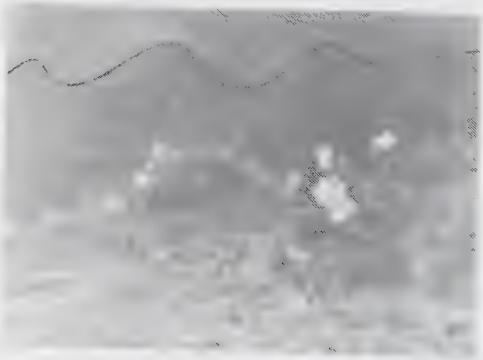


Abb. 14 b:
Fluoreszenzmikroskopische Darstellung desselben Ausschnitts.
Im Corium lassen sich bereits zahlreiche Tumorzellen nachweisen.
Anm.: Zur besseren Orientierung ist die Basalmembran nachgezogen worden.

Von besonderem Interesse ist das Auffinden von Melanomzellen am Übergang zwischen Corium und Subcutis bzw. im subcutanen Fettgewebe, also außerhalb des soliden Tumorzellverbandes (Abb. 14 a und b, 15 und 16). Die Häufigkeit des Vorliegens einzelner Tumorzellen in diesem Bereich spricht dafür, daß schon Eindringtiefen erreicht worden sind, die im Haematoxylin-Eosin-Präparat nicht erkannt werden können.

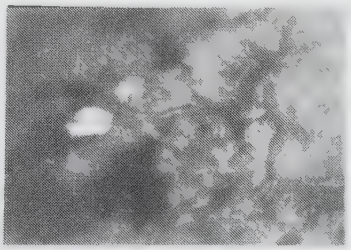


Abb. 15:
Oberflächlich spreitendes Melanom, das nach lichtmikroskopischer Betrachtung in die Klasse CLARK III eingestuft wurde.
Hier nun befinden sich zwei Tumorzellen im tiefen Corium. Es ist bemerkenswert, wie stark sich die beiden Zellen von dem ebenfalls fluoreszierenden corealen Bindegewebe abheben.

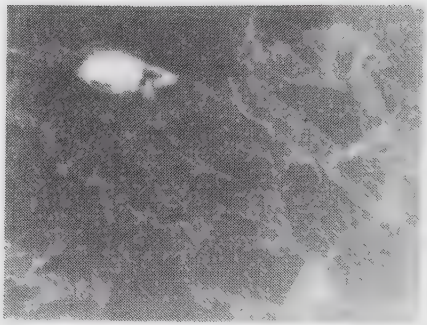


Abb. 16:
Tumorzellgruppe eines oberflächlich spreitenden Melanoms im subcutanen Fettgewebe. Auch hier befand sich die Tumorzellgruppe weitab vom eigentlichen Tumorpol, der sich bis ins Stratum papillare erstreckte.

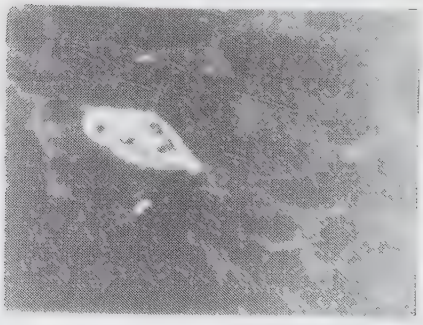


Abb. 17:
Kleines Tumorzellnest eines oberflächlich spreitenden Melanoms im subcutanen Fettgewebe. Der Tumorpol erstreckt sich bei diesem Präparat bis zum Übergang ins Stratum reticulare.

Sehr unterschiedlich verhielt es sich in dem Untersuchungsgut der oberflächlich spreitenden Melanome mit der Melanin-Pigmentierung. Manche Tumoren zeigten nur geringe oder gar keine Pigmentierung (Abb. 8, 9 a und b, 10 a und b), andere wiederum produzierten Melanin in großen Mengen.

Die Melanin-Pigmentierung schwächt unter Umständen die Fluoreszenz (Abb. 18), so daß diagnostisch Schwierigkeiten entstehen können. In der Regel sind jedoch genügend Tumorzellen vorhanden, die nicht von Melanin-Granula überlagert sind, so daß die Diagnosestellung nur unwesentlich erschwert wird.

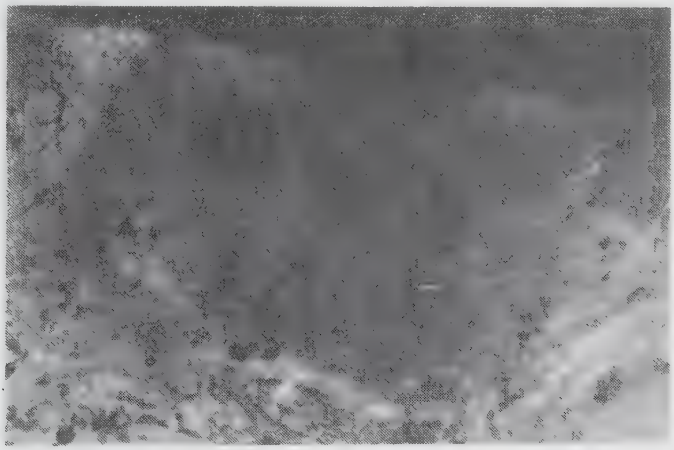


Abb. 18:
Schon weit vorgedrungenes oberflächlich spreitendes Melanom (CLARK IV-V) mit stark ausgeprägter Melanin-Pigmentierung.
Die Fluoreszenz kommt nur schwach zur Geltung, zum Teil werden die Tumorzellen vollständig von Melanin-Pigment überlagert, so daß der fluoreszierende Effekt entfällt. Als erschwerendes Moment hinsichtlich der Diagnostik kommt in diesem Fall die Tatsache hinzu, daß die Fluoreszenz des umgebenden Bindegewebes sehr intensiv ist.

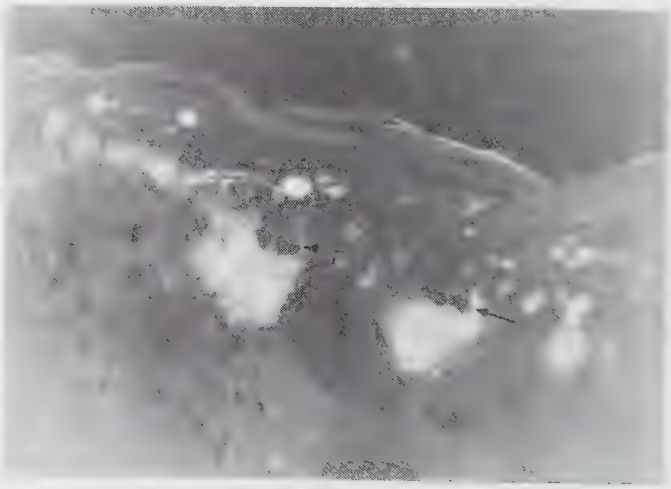


Abb. 19:
Oberflächlich spreitendes Melanom von der Eindringtiefe CLARK II-III.
In der Nachbarschaft der Tumorzellen beobachtet man eine ausgeprägte Melanin-Pigmentierung. Sie scheint an einigen Stellen eine Schwächung der Fluoreszenz zu bewirken (s. Pfeile), nämlich dort, wo kleine Melanin-Partikel Tumorbestandteile überlagern

Während die Tumorzellen in der Epidermis durch mehr oder weniger uniformes Aussehen gekennzeichnet waren (Abb. 9 a und b), treten sie in tieferen Schichten in vielfältiger Form auf (Abb. 20, 21 a und b).

Im Vergleich zum anschließend beschriebenen nodulären Melanom weisen sie aber immer noch ein einheitliches Bild auf.

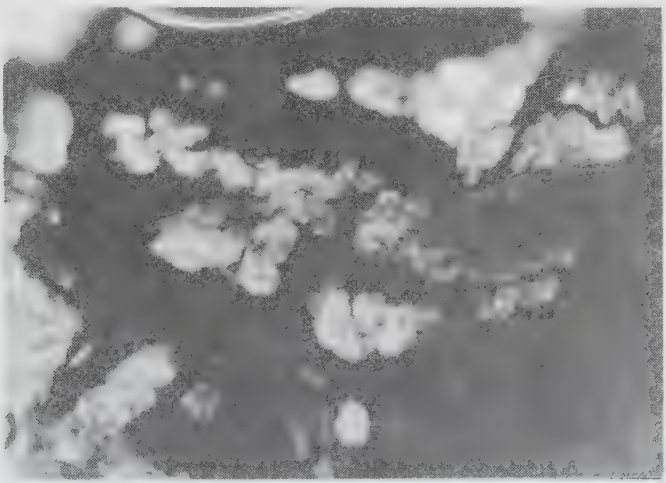


Abb. 20:
Oberflächlich spreitendes Melanom CLARK IV. Trotz der Tiefe ist die Fluoreszenz immer noch sehr ausgeprägt. Die Tumorzellen haben ihre Gleichförmigkeit, die sie in der Epidermis besaßen, verloren. Neben rund-ovalen findet man nun polygonale, unterschiedlich konfigurierte Zellen, die auch in ihrer Größe stark variieren.

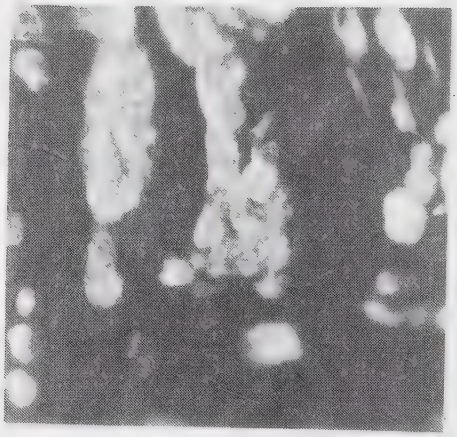


Abb. 21 a:
Hierbei handelt es sich um ein oberflächlich spreitendes Melanom CLARK III-IV.
Auch in diesem Präparat haben die Tumorzellen ihre Gleichförmigkeit verloren.

Abb. 21 b:
Lichtmikroskopische Darstellung desselben Ausschnitts, jedoch bei geringerer Vergrößerung.
Die auch hierbei unregelmäßiger erscheinenden Tumorzellen sind vielfach von Lymphozyten überlagert.

3.2.2. Das noduläre Melanom

Ebenso wie beim oberflächlich spreitenden Melanom ist die Intensität der Fluoreszenz in der Epidermis und im oberen Corium ausgeprägter als in tieferen Gewebsabschnitten (Abb. 22, 24 a und b).

Jedoch konnten auch bei allen Präparaten vom Typ des nodulären Melanoms immer eine Reihe von Tumorzellen mit positiver Fluoreszenz nachgewiesen werden, so daß diagnostisch keine Schwierigkeiten auftraten.

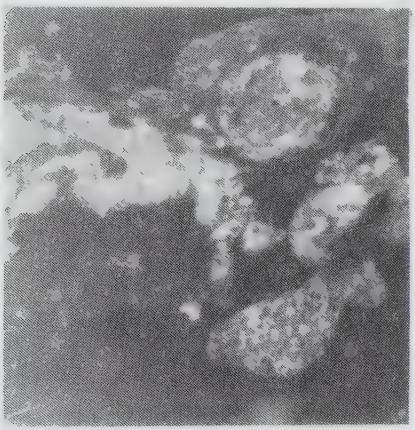


Abb. 22:
Noduläres Melanom, das bereits bis ins tiefe Corium vorgedrungen ist (CLARK IV).
Auch hierbei nimmt die Intensität der Fluoreszenz mit der Eindringtiefe ab.

Die Fluoreszenz tritt beim nodulären Melanom meist intensiver auf als beim oberflächlich spreitenden Melanom.

Ebenso wie beim oberflächlich spreitenden Melanom lassen sich durch intensive Fluoreszenz Zellstrukturen und -grenzen nicht exakt erkennen, wenn die Tumorzellen in großer

Zahl dicht aneinandergelagert sind (Abb. 23 a und b, 24 a und b). Solche dichten Ansammlungen von Tumorzellen findet man auch beim nodulären Melanom vorwiegend im Junktionsbereich.

Abb. 23 a:
Noduläres Melanom, CLARK IV.
Dicht nebeneinandergelagerte Tumorzellen zeichnen sich durch intensive Fluoreszenz aus, wodurch Zellgrenzen und Zellkerne zum Teil nicht mehr zu erkennen sind.

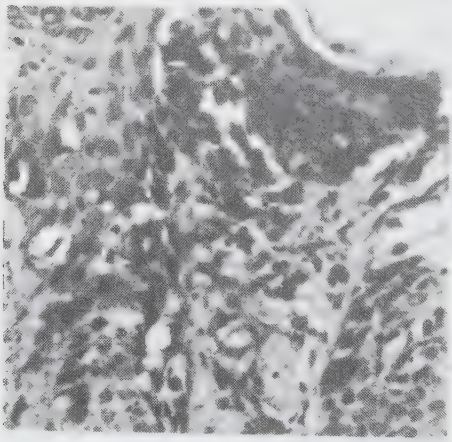


Abb. 23 b:
Lichtmikroskopische Darstellung desselben Ausschnitts.
Deutlich sichtbar die dicht aneinandergelagerten Tumorzellen.

Charakteristisch für das noduläre Melanom ist der scharfe Übergang von gesunder zu tumorös durchsetzter Epidermis (Abb. 24 a und b). Dadurch ist es eindeutig sowohl vom oberflächlich spreitenden Melanom als auch vom Naevuszellnaevus zu unterscheiden. Die Retezapfen der gesunden Haut scheinen unverändert, obwohl sich in ihrer Nachbarschaft bereits massive Tumorzellaggregate finden.

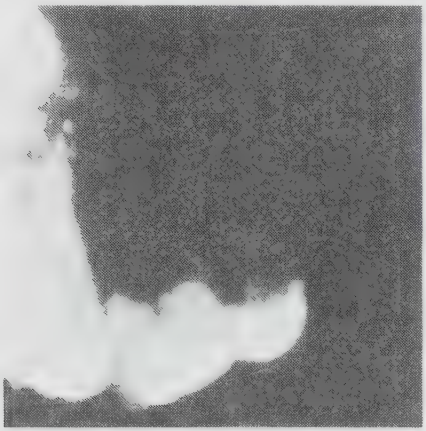


Abb. 24 a:
Noduläres Melanom, CLARK II.
Abrupter Übergang von gesunder zu tumorös durchsetzter Epidermis. Beachtenswert wiederum die intensive Fluoreszenz. Die nicht befallene Epidermis zeichnet sich schattenhaft ab.

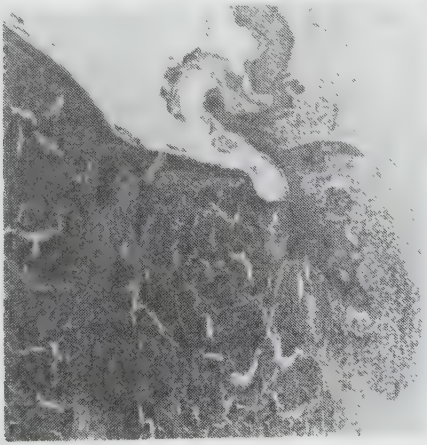


Abb. 24 b:
Lichtmikroskopische Darstellung desselben Ausschnitts.
Hierbei ist der abrupte Übergang zwischen Tumor und nicht befallener Haut durch lymphohistiozytäre Infiltrate etwas verwischt.

Mehr als das oberflächlich spreitende Melanom wächst das noduläre Melanom keil- und strangförmig in die Tiefe, ohne sich horizontal auszubreiten (Abb. 25 und 26).

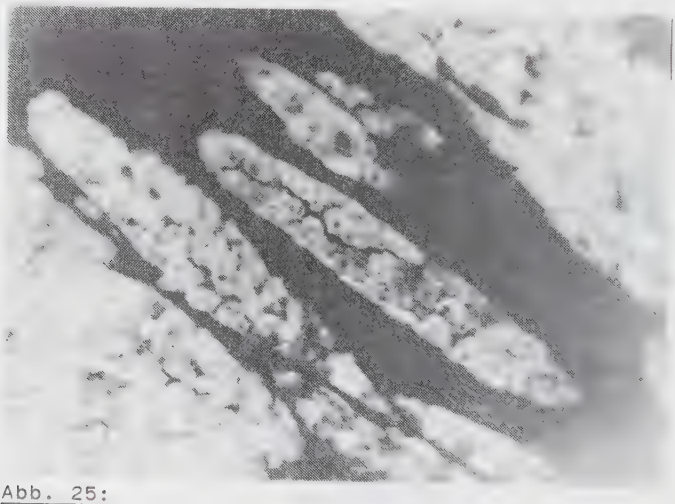


Abb. 25:
Strangförmiges Tiefenwachstum eines bereits weit fortgeschrittenen Melanoms.
Nur selten kommt es vor, daß einzelne Tumorzellen sich aus einem solchen Strang lösen.
Auch in diesem Fall ist die Intensität der Fluoreszenz noch sehr stark.

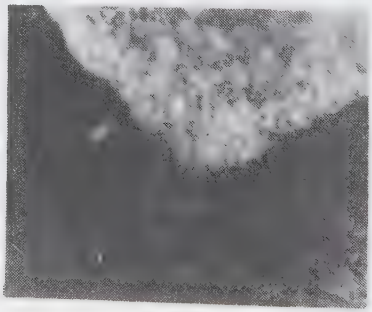


Abb. 26:
Keilförmiger unterer Tumorpol eines nodulären Melanoms CLARK III-IV.
Am unteren Tumorpol findet man noch kein Breitenwachstum.

In tieferen Schichten ist die Abgrenzung gegenüber der Umgebung nicht immer so scharf wie in der Epidermis. Hier kommen aus dem soliden Tumorzellverband losgelöste Tumorzellen wie beim oberflächlich spreitenden Melanom vor (Abb. 27).

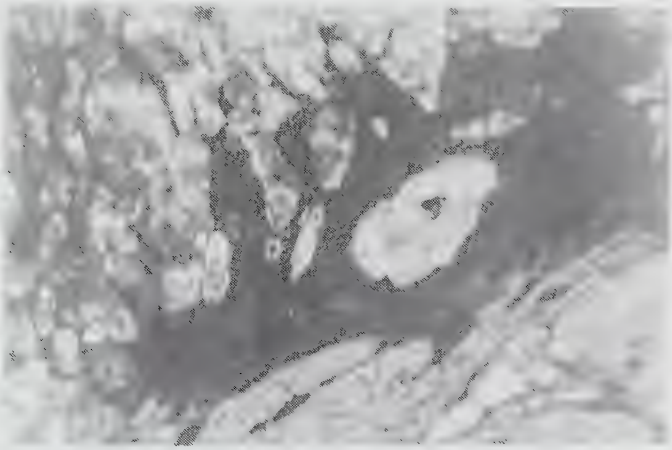


Abb. 27:
Strangförmig in die Tiefe wachsendes noduläres Melanom.
Neben den Zellsträngen beobachtet man einzelne losgelöste Tumorzellen. Trotz der Eindringtiefe ist die Fluoreszenz genauso intensiv wie im epidermalen Anteil. Dies gilt auch für einzeln liegende Tumorzellen. Eine Gruppe von Tumorzellen ist bereits in eine tiefere Gewebsschicht vorgedrungen.

Durch Rundzellüberlagerung, wie dies beim oberflächlich spreitenden Melanom bereits beschrieben wurde, können im Lichtmikroskop diese losgelösten Tumorzellen ebenfalls maskiert werden, so daß auch beim nodulären Melanom mit Hilfe des Fluoreszenzmikroskops genauere Angaben gemacht werden können (Abb. 28 a und b).

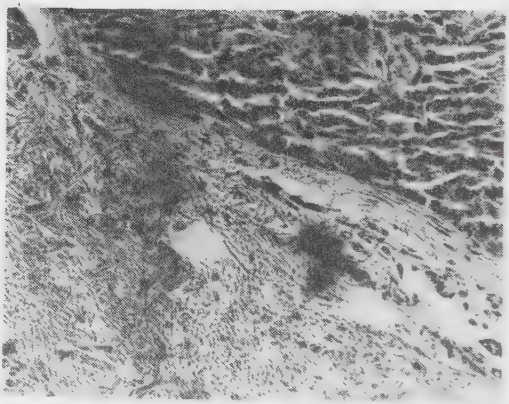


Abb. 28 a:
Haematoxylin-Eosin-Präparat eines nodulären Melanoms.
Neben dem Haupttumor findet man keine einzelnen Tumorzellen im umliegenden Gewebe. Wohl beobachtet man zahlreiche Lymphozyten.

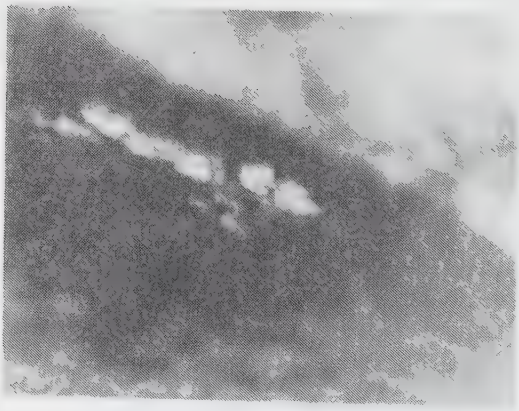


Abb. 28 b:
Fluoreszenzmikroskopische Darstellung desselben Ausschnitts.
Deutlich sichtbar sind hier einige vom Haupttumor losgelöste Tumorzellen, die im Haematoxylin-Eosin-Präparat nicht zu erkennen waren.

Die Morphologie der einzelnen Tumorzellen ist beim nodulären Melanom wesentlich vielfältiger als beim oberflächlich spreitenden Melanom (Abb. 29 und 30). Neben runden und spindelförmigen Zellen verschiedenster Größe findet man gezackte und vieleckige Zellen, die in wahlloser Anordnung vorliegen und keine Regelmäßigkeit erkennen lassen. Die Zellkerne sind durch fehlende Fluoreszenz gut dargestellt. Sie variieren ebenfalls in Form und Größe stark.

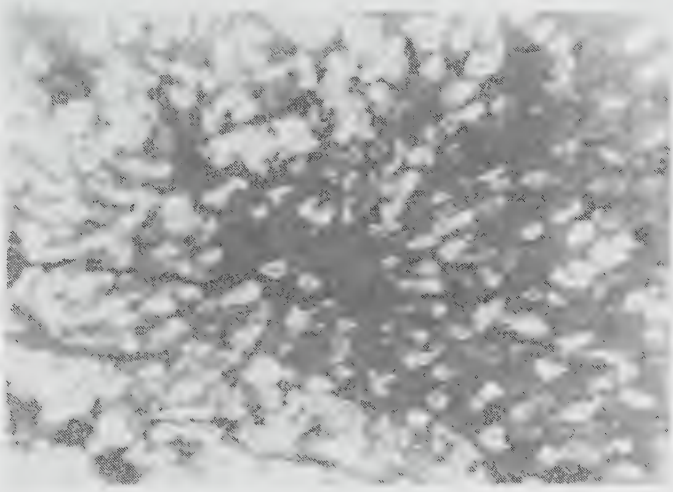


Abb. 29:
Ausschnitt aus dem Zentrum eines weit ins Corium vorgedrungenen nodulären Melanoms. Die Tumorzellen variieren stark in Form und Größe (Näheres s. Text). Das rasche Tumorwachstum ist gekennzeichnet durch zahlreiche Mitosen.

Abb. 30:
Vielfalt von Tumorzellen, die die Epidermis und bereits das gesamte Corium durchsetzt haben.
Zu beachten sind die großen Unterschiede zwischen den einzelnen Tumorzellen in Bezug auf ihre Form und Größe. Es handelt sich um ein noduläres Melanom CLARK IV. Die Abschwächung der Fluoreszenz in einigen Bereichen des Tumors kommt durch eine massive Melanin-Pigmentierung zustande (s. Pfeile).

Mit der Melanin-Pigmentierung verhält es sich ebenso wie beim oberflächlich spreitenden Melanom. Die Fluoreszenz ist zum Teil abgeschwächt, es bestehen jedoch keine Schwierigkeiten in Bezug auf die Diagnostik. Manche nodulären Melanome sind fast frei von Melanin-Pigment.

Auch bei der fluoreszenzmikroskopischen Betrachtung der nodulären Melanome konnten einzelne Tumorzellen im subcutanen Fettgewebe nachgewiesen werden, die unter lichtmikroskopischer Betrachtung nicht aufzufinden waren (Abb. 31).

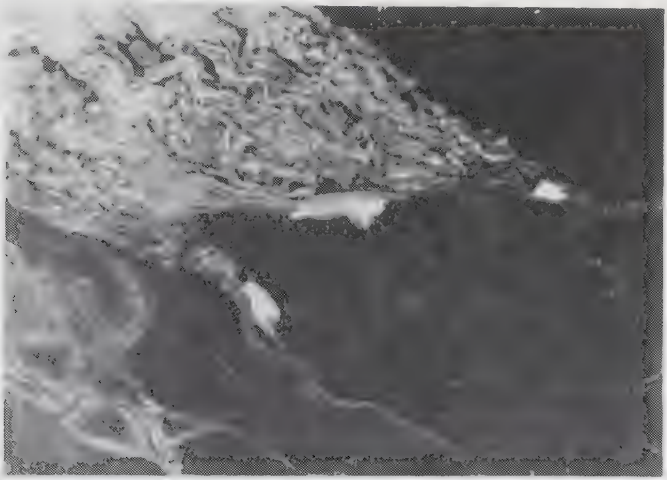


Abb. 31:
Einzelne Tumorzellgruppen eines nodulären Melanoms am Übergang vom Corium ins subcutane Fettgewebe.
Nach lichtmikroskopischer Betrachtung war der Tumor mit CLARK III-IV bezeichnet worden. Nach dem fluoreszenzmikroskopischen Befund muß er aber dem Level V nach CLARK zugeordnet werden.
Im oberen Anteil des Bildes kommt die Eigenfluoreszenz des Bindegewebes stark zur Geltung, sie wird jedoch durch die Fluoreszenz der Tumorzellen übertroffen.
Die Tumorzellen befinden sich in der Mitte des Bildes an der Grenze des weitmaschigen, nicht fluoreszierenden Fettgewebe zum tiefen Bindegewebe. Zwei Tumorzellen sind im Begriff, tiefer ins Fettgewebe einzudringen.

3.3. BEOBACHTUNGEN AN NAEVUSZELLNAEVI

3.3.1. Junktionsnaevus

Wie bereits oben erwähnt, erstrecken sich die Naevuszellen des Junktionsnaevus nur über die Epidermis und zeigen, ähnlich wie beim Melanom, hier die ausgeprägteste Fluoreszenz. Vor allem dort, wo die Naevuszellen in Nestern angeordnet sind, ist die Intensität der Fluoreszenz sehr stark (Abb. 32).

Abb. 32:
Junktionsnaevus.
Das große Naevuszellnest ist durch ausgeprägte Fluoreszenz gekennzeichnet, die in kleinen Gruppen angeordneten Naevuszellen weisen eine weniger intensive Fluoreszenz auf.

Aber auch dort, wo die Naevuszellen einzeln oder in geringer Zahl nebeneinanderliegend vorkommen, ist die Intensität ausreichend, um eine genaue Diagnostik betreiben zu können. Der Junktionsnaevus kann sich über verschieden große Areale der Epidermis erstrecken, ohne die Basalmembran zu durchbrechen. So zeigt Abb. 32 einen Junktionsnaevus, der sich über einen relativ schmalen Epidermisstreifen erstreckt.

In der nachfolgenden Abbildung (Abb, 33) hingegen liegt ein Junktionsnaevus vor, der sich weit innerhalb der Epidermis ausgebreitet hat, ohne die Basalmembran an einer Stelle zu durchbrechen. Die intakte Basalmembran läßt sich fluoreszenzmikroskopisch dadurch gut erkennen, daß sie einen glatten Übergang zwischen den intensiv fluoreszierenden Naevuszellanteilen und dem nur gering fluoreszierenden corealen Bindegewebe darstellt.

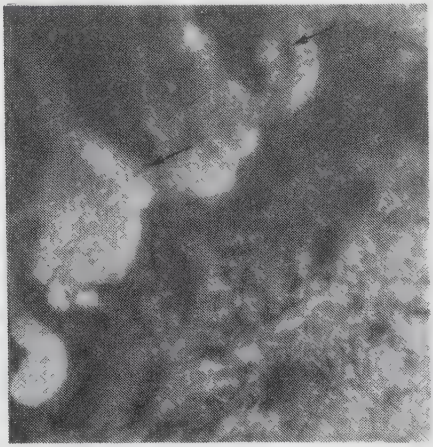


Abb. 33:
Junktionsnaevus, der sich in der Epidermis schon breitflächig ausgedehnt hat, ohne daß schon Naevuszellen "abgetropft" sind. Überall liegen kleine Melanin-Granula (s. Pfeile).

Sobald dieser Übergang gezackt oder unregelmäßig erscheint und die Basalmembran unterbrochen ist (Abb. 34 und 35), spricht man nicht mehr von einem Junktions- sondern von einem Compoundnaevus.

Mit der Melanin-Pigmentierung verhält es sich sehr unterschiedlich. In den meisten Junktionsnaevi findet sich nur sehr wenig Melanin-Pigment (Abb. 33), welches in kleinsten Körnchen überall verstreut liegt. Ähnlich verhält es sich mit den im Folgenden beschriebenen Compoundnaevi.

3.3.2. Compoundnaevus

Compoundnaevi entwickeln sich aus Junktionsnaevi, indem Naevuszellen nach Durchbrechen der Basalmembran ins obere Corium eindringen. Dieser Übergang vom Junktions- in einen Compoundnaevus läßt sich mit Hilfe des Fluoreszenzmikroskops sehr schön darstellen (Abb. 34). Er ist gekennzeichnet durch eine mehr gezackte und regelmäßig "ausgefranst" erscheinende Basalmembran, was als Zeichen der Zerstörung derselben zu bewerten ist.

Abb. 34:
Compoundnaevus.
Während die Epidermis von Naevuszellen durchsetzt ist, tropfen einige große Naevuszellnester bereits ins Corium ab. Sehr schön zu erkennen ist die unregelmäßig gezackte Basalmembran als Ausdruck des Durchbruchs von Naevuszellen ins Coriums (s. Pfeile).

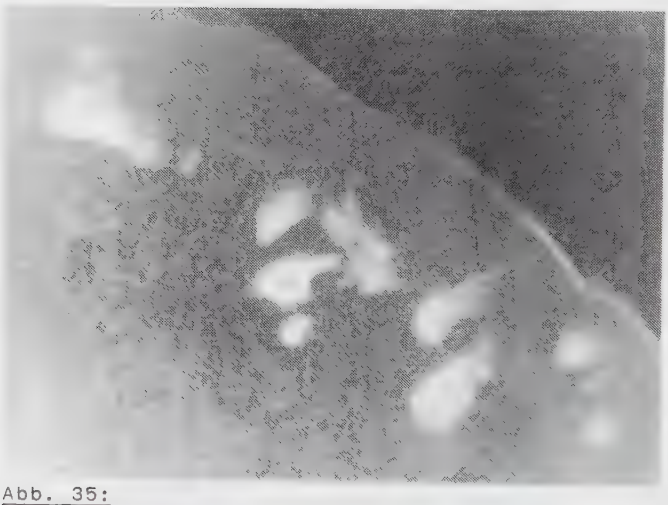


Abb. 35:
Compoundnaevus.
Die Basalmembran ist bereits an mehreren Stellen durchbrochen. Man beachte die unterschiedliche Intensität der Fluoreszenz zwischen größeren Zellaggregaten und kleineren Zellnestern.

Die Abtropfung von Naevuszellen findet meist in Form von Zellnestern statt (Abb. 36). Dadurch ist auch die intensive Fluoreszenz selbst im oberen Corium zu erklären, die nicht hinter der der Epidermis zurücksteht, da Zellansammlungen, wie bereits oben erwähnt, eine intensivere Fluoreszenz aufweisen als einzelne Zellen. Erst im mittleren und tiefen Corium läßt die Intensität der Fluoreszenz nach und paßt sich so mehr und mehr der Fluoreszenz des corealen Bindegewebes an, so daß in manchen Fällen keine exakten Angaben über die Ausdehnung des Naevuszellnaevus mehr gemacht werden können (Abb. 36).

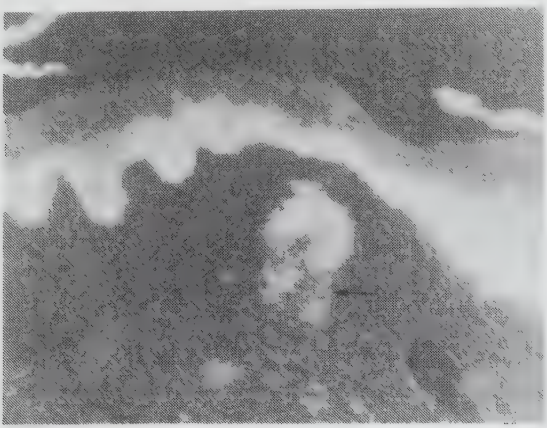


Abb. 36:
Compoundnaevus.
An einer Stelle ist ein Naevuszellnest bereits bis ins mittlere Corium vorgedrungen. Die Fluoreszenz des bereits im Corium liegenden Naevuszellnests ist im Vergleich zu den in der Epidermis liegenden Zellgruppen schwächer.

Mit der Melanin-Pigmentierung verhält es sich ähnlich wie beim Junktionsnaevus. Vereinzelt werden Melanin-Granula beobachtet, eine übermäßig starke Pigmentierung findet man jedoch selten (Abb. 37). Selbst in einem solchen Fall treten jedoch keine diagnostischen Probleme auf, da immer noch genügend Naevuszellen ohne Pigment-Überlagerung vorhanden sind, die eine ausreichend intensive Fluoreszenz aufrechterhalten.

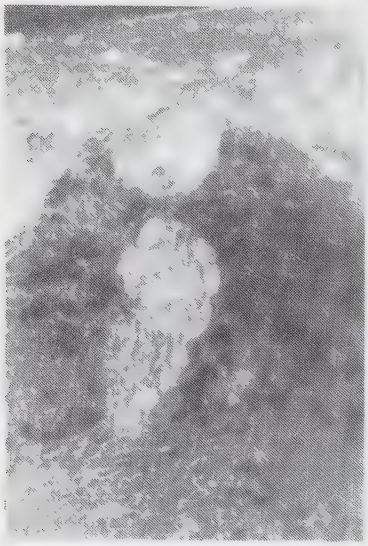


Abb. 37:
Compoundnaevus mit ziemlich starker Melanin-Pigmentierung.
Auch hier scheinen Melanin-Granula fluoreszierende Naevuszellen zu überlagern.

3.3.3. Der coreale Naevus

Der coreale Naevus stellt das Folgestadium des Compoundnaevus dar. Die sich nun fast alle im Corium befindlichen Naevuszellen sind fluoreszenzmikroskopisch zum Teil schwächer darstellbar als bei den beiden oben beschriebenen Formen. Dies ist Folge der mit Zunahme der Eindringtiefe nachlassenden Intensität der Fluoreszenz (Abb. 38) bzw. der geringeren oder erloschenen Melanin-Bildung.

Abb. 38:
Corealer Naevus.
Während das im oberen Bildabschnitt liegende Naevuszellnest gerade aus der Epidermis abgetropft ist (s. Pfeil), befinden sich alle anderen Nester im Corium. Die Intensität der Fluoreszenz ist im Vergleich zu den Junktions- und Compoundnaevi schwächer und zeigt in Richtung auf die tieferen Schichten abnehmende Tendenz.

Liegen die Naevuszellen noch im oberen Corium, so ist die Intensität der Fluoreszenz in manchen Fällen nicht beeinträchtigt (Abb. 39).

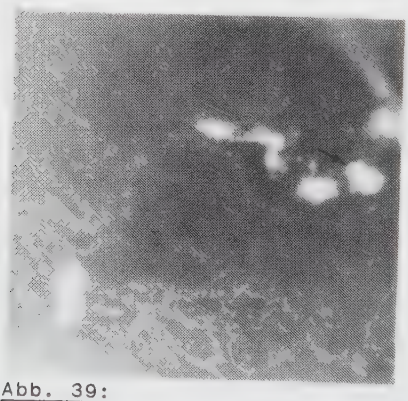


Abb. 39:
Corealer Naevus.
Die gut fluoreszierenden Naevuszellen befinden sich noch im oberen Corium.
Links unten im Bild handelt es sich um einen Artefakt.
Eine Naevusriesenzelle zeigt besonders intensive Fluoreszenz (s. Pfeil).

Mit der Melanin-Pigmentierung verhält es sich anders als beim Junktions- und Compoundnaevus. Alle untersuchten corealen Naevi waren nahezu pigmentfrei.

Coreale Naevi, deren Zellen in der Umgebung eines Haarfollikels liegen, zeigen eine ebenso intensive Fluoreszenz wie die epidermalen Naevuszellen beim Junktions- und Compoundnaevus (Abb. 40). Mehrkernige Naevusriesenzellen, die sich nach unseren Untersuchungen fast ausschließlich in corealen

Naevi finden, sind durch eine besonders intensive Fluoreszenz gekennzeichnet (Abb. 39 und 40).

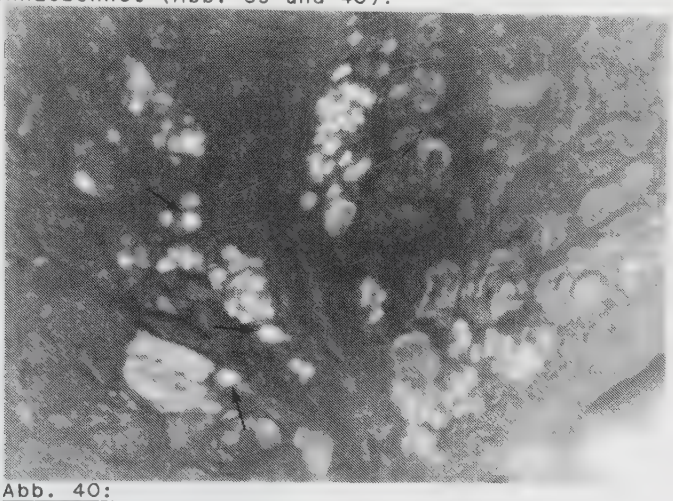


Abb. 40:
Corealer Naevuszellnaevus, der einen grossen Teil des Coriums einnimmt.
Während die Fluoreszenz im Randbereich mit Zunahme der Eindringtiefe kontinuierlich abnimmt, bleibt die Intensität längs des Haarfollikels unverändert. Gut sichtbar auf dieser Abbildung ist die einheitliche Form der einzelnen Naevuszellgruppen. Man beachte die intensive Fluoreszenz einiger Naevusriesenzellen (s. Pfeile).

Zur Morphologie der Naevuszellen sei hinzugefügt, daß Unterschiede in Form und Größe in unserem Untersuchungsgut nur in geringem Maße vorkommen (Abb. 40), daß ausschlaggebend für das Vorliegen eines Naevuszellnaevus jedoch die typische Ansammlung von Zellnestern ist (Abb. 34, 35, 36 und 38)

4. DISKUSSION

Die prognostische Beurteilung eines malignen Melanoms beruht im wesentlichen auf der Tatsache, daß verschiedene Melanom-Typen existieren, die einen unterschiedlichen Malignitätsgrad aufweisen. Darüber hinaus werden wichtige Aufschlüsse bezüglich der Malignität geliefert durch die Invasionstiefe des Tumors (CLARK et al. 1969, MIHM et al. 1971, McGOVERN et al. 1973, KLOSTERMANN und HEITE 1972), durch die maximale Tumordicke (BRESLOW 1977) und den prognostischen Index (SCHMOECKEL 1978). Als prognostisch günstig werden Melanozyten-Vermehrungen angesehen, die die Basalmembran noch nicht durchbrochen haben. Hier spricht man heute nicht mehr von einem Melanom, sondern von einer "melanozytischen Dysplasie" bzw. einem "Melanoma in situ". Bei allen anderen Formen ist die Prognose eher als ungünstig zu bezeichnen (PAUL und ILLIG 1975). Dies gilt insbesondere dann, wenn Tumorzellen im tiefen Corium oder gar im Fettgewebe nachgewiesen werden können (Level IV und V).

Aufgrund der Bedeutung der Invasionstiefe scheint sich die Formalin-induzierte Fluoreszenzmethode nach FALCK und HILLARP als sehr wichtiges, notwendiges und sinnvolles Verfahren für eine exakte Melanom-Diagnostik darzustellen. Mit Hilfe dieser Methode ist es möglich, wesentlich exaktere Angaben über die Invasionstiefe zu machen. Dies gilt sowohl für das oberflächlich spreitende als auch für das noduläre Melanom, die sich in der Intensität ihrer Fluoreszenz, wie oben erwähnt, nur geringfügig unterscheiden. Auf die Wichtigkeit der Beurteilung vor Basalmembran-Durchbrüchen haben PAUL und ILLIG bereits 1975 hingewiesen. Es ge-

lingt mit der Formalin-induzierten Fluoreszenzmethode eindrucksvoll, Basalmembran-Durchbrüche exakt darzustellen, weil die ansonsten wie eine geschwungene Linie verlaufende basale Begrenzung der Epidermis nunmehr einen gezackten, ausgefransten, unregelmäßigen Verlauf nimmt (Abb. 41).

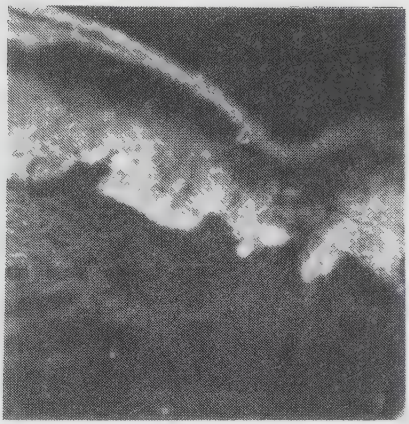


Abb. 41:
Oberflächlich spreitendes Melanom CLARK II.
An drei Stellen ist die Basalmembran bereits durchbrochen, die basale Begrenzung erscheint ausgefranst.

Dies ist mit Hilfe der lichtmikroskopischen Untersuchungsmethode nicht immer feststellbar, weil oft massive lymphohistiozytäre Infiltrate vorliegen, die die Tumorzellen "maskieren" können und somit eine geringere Eindringtiefe vortäuschen (s. Abb. 13 a und b, 14 a und b, 28 a und b), was auch gerade bei nicht erkannten Besalmembran-Durchbrüchen zu prognostischen Fehlinterpretationen Anlaß gibt (ILLIG 1974).

Des weiteren ermöglicht die Formalin-induzierte Fluoreszenz-methode eine exaktere Diagnostik aufgrund der schon von FALCK und HILLARP (1962) aufgeführten Tatsache, daß

selbst einzelne Zellen oder kleinere Tumorzellverbände ausserhalb des eigentlichen Tumorpols gut dargestellt werden können, was mit Hilfe des Lichtmikroskops nahezu überhaupt nicht gelingt. So kam es in dieser Untersuchungsreihe überraschend häufig vor (bei 14 von 30 Präparaten), daß die im Rahmen einer lichtmikroskopischen Voruntersuchung festgelegte Eindringtiefe korrigiert werden mußte. Bemerkenswert schien es hierbei vor allen Dingen, daß sich einzelne Tumorzellen zum Teil schon so weit vom eigentlichen Tumorzentrum entfernt hatten, daß sie nur noch durch umfangreiche Untersuchungen entdeckt werden konnten (Abb. 31).

Wie bereits von PAUL und ILLIG (1975) festgestellt wurde, befinden sich diese einzelnen oder in geringer Anzahl losgelösten Tumorzellen in Gewebespalten oder im subcutanen Fettgewebe (Abb. 15, 16 und 17).

Gefäßeinbrüche von Tumorzellen, wie sie ebenfalls von PAUL und ILLIG (1975) angegeben wurden, konnten in unserem Untersuchungsgut nicht festgestellt werden.

Die Fluoreszenz der Tumorzellen bzw. Tumoranteile ist nicht in allen Gewebsabschnitten von gleicher Intensität. Sowohl beim oberflächlich spreitenden als auch beim nodulären Melanom beobachtet man die intensivste Fluoreszenz in nahezu allen Fällen in den basalen Anteilen der Epidermis (Abb. 8, 10 a und b, 11 a und b, 24 a und b).So konnten bei einigen Präparaten keine exakten Aussagen über die Zellmorphologie in diesem Bereich gemacht werden, weil durch die sehr intensive Fluoreszenz Zellgrenzen und Zellkerne in den Hintergrund traten (Abb. 11, 13 b). Nach FALCK beruht diese intensive Fluoreszenz darauf, daß die Tumorzellen hier in sehr

großer Anzahl eng nebeneinander liegen. In einigen Fällen mit weniger intensiver Fluoreszenz im basalen Anteil der Epidermis lassen sich genauere Angaben über die Zellmorphologie machen: Die Zellen des oberflächlich spreitenden Melanoms zeichnen sich durch ziemlich uniformes Aussehen aus (Abb. 8, 9a und b). Sie haben meist eine rund-ovale Form, weisen keine oder wenige Zellausläufer auf und besitzen einen in der Regel großen Zellkern, der aufgrund fehlender Fluoreszenz meist gut dargestellt werden kann. In ihrer Anordnung sind die Zellen durch eine gewisse Regelmäßigkeit gekennzeichnet. Die Zellen des nodulären Melanoms weisen eine wesentlich vielfältigere Zellmorphologie auf (Abb. 29 und 30). Sie können rund und spindelförmig sein, sind in ihrer Größe sehr unterschiedlich, liegen in wahlloser Anordnung vor und besitzen in Form und Größe sehr stark variierende Zellkerne.

Wie bereits von FALCK et al. (1962) beschrieben, weisen die Zellen des oberflächlich spreitenden Melanoms in tieferen Schichten eine vielfältigere Morphologie als in der Epidermis auf (Abb. 20). Die relativ bunte Morphologie des nodulären Melanoms ist in epidermalen und dermalen Anteilen die gleiche (Abb. 22, 25, 27, 29 und 30).

Mit Zunahme der Eindringtiefe nimmt die Intensität der Fluoreszenz sowohl beim oberflächlich spreitenden als auch beim nodulären Melanom ab. Hierbei lassen sich jedoch keine exakten Gesetzmäßigkeiten aufstellen. Bei der Mehrzahl der untersuchten oberflächlich spreitenden Melanome verringerte sich die Intensität der Fluoreszenz mit Zunahme der Eindringtiefe

kontinuierlich (Abb. 9 a und b, 12 a und b), nur bei einigen wenigen Präparaten blieb sie unverändert (Abb. 20). Im Gegensatz zu FALCK et al. (1962), die von einer gleichbleibenden Intensität sowohl in oberflächlichen als auch in tiefen Abschnitten berichteten, ist es bei einigen Präparaten mit Schwierigkeiten verbunden, aufgrund der nachlassenden Fluoreszenz die exakte Invasionstiefe anzugeben (Abb. 42).

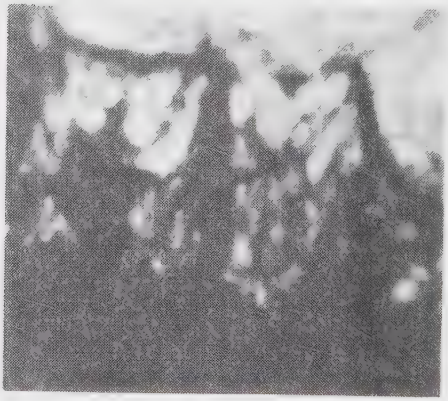


Abb. 42:
Oberflächlich spreitendes Melanom CLARK III-IV. Die sehr tief gelegenen Melanomzellen weisen nahezu keine Fluoreszenz mehr auf (s. Pfeile).

PAUL und ILLIG (1975) führten zwar auf, daß sie keinen Tumor untersucht haben, dessen Zellen alle negativ reagierten, jedoch erfährt das Verfahren, das ja genauere Angaben über die Invasionstiefe machen soll, dadurch eine Ungenauigkeit, daß Tumorzellen "übersehen" werden können.

Es hat sich auch aus unseren Untersuchungen ergeben, daß in keinem Tumor alle Zellen nicht reagierten, so daß die Diagnose "oberflächlich spreitendes Melanom" immer eindeutig gestellt werden konnte, über die exakte Begrenzung des Tumors

konnten jedoch nicht immer sichere Angaben gemacht werden (Abb. 12 a und b, 42). In den untersuchten Fällen, in denen die Intensität der Fluoreszenz auch bei fortgeschrittener Eindringtiefe unverändert gut war, ließen sich dafür die anfangs aufgeführten positiven Ergebnisse festhalten, nämlich daß Basalmembran-Durchbrüche und das Vordringen einzelner Tumorzellen in tiefere Gewebsschichten besser diagnostiziert werden können.

Man kann für oberflächlich spreitende Melanome festhalten, daß mit der Formalin-induzierten Fluoreszenzmethode zwar bessere Ergebnisse im Hinblick auf die Eindringtiefe erzielt werden, daß jedoch weiterhin Ungenauigkeiten wegen der unterschiedlichen Ausprägung der Fluoreszenz bei einzelnen Tumorzellen nicht auszuschließen sind.

Auch beim nodulären Melanom nimmt mit zunehmender Eindringtiefe die Intensität der Fluoreszenz ab. Da die Fluoreszenz der nodulären Melanome bei fast allen Präparaten aus unserem Untersuchungsgut wesentlich stärker war als bei den oberflächlich spreitenden Melanomen, fällt diese Tatsache nicht so sehr ins Gewicht.

Darüberhinaus konnten wir feststellen, daß das noduläre Melanom meist strang- und keilförmig in die Tiefe wächst (Abb. 25 und 26), so daß praktisch immer ganze Zellverbände im Begriff sind, sich in tiefere Hautschichten vorzuschieben. Aus diesem Grunde ist die Wahrscheinlichkeit, einzelne Tumorzellen zu übersehen, doch etwas geringer als beim oberflächlich spreitenden Melanom, was jedoch nicht über mögliche diagnostische Ungenauigkeiten hinwegtäuschen soll.

Erstaunlich oft konnten sowohl beim oberflächlich spreitenden als auch beim nodulären Melanom einzelne Tumorzellen oder kleinere Tumorzellverbände in tieferen Gewebsabschnitten festgestellt werden (Abb. 15, 16, 17 und 31). Während FALCK und HILLARP (1962) nur zu dem Ergebnis kamen, daß die Fluoreszenz ausreicht, um einzelne Tumorzellen entfernt vom Haupttumorpol ausfindig zu machen, ohne jedoch Genaueres über die Lokalisation anzugeben, machten PAUL und ILLIG (1975) in ihren Untersuchungen schon exaktere Angaben, die mit unseren Untersuchungen nahezu übereinstimmten. Auch PAUL und ILLIG konnten photographisch kleinere Tumorzellverbände im subcutanen Fettgewebe festhalten. Weder PAUL und ILLIG noch wir konnten im Rahmen dieser Untersuchungen jedoch feststellen, ob im gleichen Rahmen auch Tumorzellen oder kleinere Tumorzellverbände in tieferen Gewebsschichten fernab vom Haupttumorpol vorkommen, die aufgrund fehlender oder zu schwacher Fluoreszenz nicht diagnostiziert werden können, also nicht erkannt werden. Der hierzu erforderliche Nachweis im Lichtmikroskop konnte nicht erbracht werden, d.h. mit Hilfe der lichtmikroskopischen Untersuchungen konnten (übrigens auch bei positiver Fluoreszenz) keine einzelnen Tumorzellen in tieferen Gewebsschichten nachgewiesen werden. Hier existiert zweifellos eine Lücke in der ansonsten schon relativ exakten Melanom-Diagnostik, die sowohl die lichtmikroskopischen als auch die fluoreszenzmikroskopischen Untersuchungsmethoden nicht schließen können.

Mit dem Pigment-Gehalt eines malignen Melanoms verhielt es sich sehr unterschiedlich. Während sowohl bei einigen nodulären Melanomen als auch bei einigen oberflächlich spreitenden Melanomen reichlich Melanin-Pigment vorhanden war, fehlte es bei anderen Präparaten vollkommen. Bezüglich der Melanin-

Pigmentierung konnten keine Gesetzmäßigkeiten festgestellt werden.

Die Intensität der Fluoreszenz wurde durch die Anwesenheit von übermäßig viel Melanin-Pigment negativ beeinträchtigt. Diese Aussage, die sich aus unseren Untersuchungen ergab, steht etwas im Gegensatz zu der Aussage von PAUL und HARTWIG (1975), die feststellten, daß die Intensität der Fluoreszenz weitgehend unabhängig vom normal-histologisch feststellbaren Pigment-Gehalt der Zellen ist. In unserem Untersuchungsgut zeigten die Tumorzellen, die viel Melanin-Pigment enthielten, eine nur geringgradig schwächere Fluoreszenz als Tumorzellen ohne Pigment-Gehalt (Abb. 18 und 19). Man hatte häufig den Eindruck, als lägen Melanin-Granula über den fluoreszierenden Zellbestandteilen (s. Pfeile auf den angebenen Abbildungen). Diese Überlagerung, die mit einer Verminderung der Fluoreszenz einhergeht, bezog sich jedoch in allen Fällen auf kleine Anteile des Gesamttumors, so daß diagnostische Probleme nicht entstanden. In Zweifelsfällen sollte das Lichtmikroskop herangezogen werden, das - wie bereits PAUL und ILLIG (1975) festhielten - Melanin-Pigmentierungen deutlicher darstellt und von daher Rückschlüsse auf das Vorliegen eines Melanoms ziehen läßt. Die lichtmikroskopische kann also gegebenenfalls die fluoreszenzmikroskopische Untersuchung sinnvoll unterstützen. Vergleichsweise war in allen Präparaten, die keine oder nur geringe Melanin-Pigmentierung aufwiesen, die Fluoreszenz intensiver.

Auf eine der Unterscheidungsmöglichkeiten zwischen einem oberflächlich spreitenden und einem nodulären Melanom mit Hilfe der Fluoreszenzmikroskopie wurde bei der Beschreibung der Zellmorphologie schon ausführlich eingegangen. Als ein weiteres Charakteristikum hat sich der Übergang von gesunder

zu tumorös durchsetzter Epidermis herausgestellt. Während die Grenze zwischen Tumor und gesunder Epidermis im Falle eines nodulären Melanoms gestochen scharf verläuft (Abb. 43 und 24 a und b), findet man beim oberflächlich spreitenden Melanom fließende Übergänge zur tumorfreien Epidermis (Abb. 11 a und b, 11 a und b).

Abb. 43:
Noduläres Melanom Level II. Gestochen scharfer Übergang zwischen gesunder und tumorös durchsetzter Epidermis. Die Basalmembran ist bereits an mehreren Stellen durchbrochen.

Die Intensität der Fluoreszenz als ein Unterscheidungsmerkmal zwischen oberflächlich spreitendem und nodulärem Melanom heranzuziehen, erscheint wenig sinnvoll, weil sich gerade in Bezug auf die Fluoreszenz selbst die Präparate einer Tumorgruppe sehr unterschiedlich verhielten.

Zur Untersuchungsmethode sei noch anzumerken, daß die zusätzlich mit Ozon bedampften Präparate zwar in den meisten Fällen eine etwas intensivere Fluoreszenz aufwiesen, daß die Unterschiede jedoch so gering waren, daß keine wesentlichen diagnostischen Vorteile entstanden.

Da die Naevuszellen ebenso wie die Melanozyten die Vorstufen des Melanins beinhalten und somit zur Melanin-Synthese befähigt sind, lassen sie sich ebenfalls durch die fluoreszenzmikroskopische Untersuchungsmethode nach FALCK und HILLARP darstellen. Diese Tatsache machten sich bereits MORISHIMA und ENDO (1978) zunutze, indem sie mit Hilfe der Fluoreszenz bestimmte Eigenschaften von Naevuszellnaevi in Hauttransplantaten feststellten.

Der Junktionsnaevus zeigt in unserem Untersuchungsgut die intensivste Fluoreszenz, was nach den Ergebnissen der Melanom-Untersuchungen zu erwarten war, weil auch hierbei die Melanin-produzierenden Zellen im basalen Anteil der Epidermis die stärkste Fluoreszenz aufweisen.

Die Intensität ändert sich darüberhinaus mit der Lage der einzelnen Naevuszellen zueinander. Liegen viele Naevuszellen in ihrer typischen Nestform eng aneinander, so beobachtet man eine wesentlich intensivere Fluoreszenz als bei Vorliegen einzelner Naevuszellen im ansonsten unauffälligen Gewebe (Abb. 32 und 35).

Der Übergang vom Junktions- zum Compoundnaevus ist ähnlich gekennzeichnet wie der Übergang eines oberflächlich spreitenden Melanoms vom Level I zum Level II. Die Basalmembran verläuft nicht länger als eine glatte Linie, sondern er-

scheint gezackt oder ausgefranst (Abb. 34, 35 und 37). Die Intensität der Fluoreszenz läßt beim Compoundnaevus mit Zunahme der Eindringtiefe nach. Dies wirkt sich jedoch erst im mittleren und tiefen Corium aus (Abb. 36 und 37), so daß dort die exakte Bestimmung nicht mehr möglich ist.

Der dermale oder coreale Naevus ist durch weitere Abnahme der Fluoreszenz-Intensität gekennzeichnet. Nur im oberen Corium, dem der Epidermis dicht anliegenden Gewebe, beobachtet man in manchen Fällen eine starke Fluoreszenz (Abb. 39). Hier liegt eine Parallele zum lichtmikroskopischen Befund vor, da im Lichtmikroskop das Melanin vorwiegend in den oberen Anteilen zu finden ist.

Ansonsten ist auch bei corealen Naevi das Festlegen der exakten Tiefenausdehnung unter Umständen schwierig. Eine Ausnahme stellen coreale Naevi in der Umgebung von Haarfollikeln dar. Sie zeigen eine ebenso intensive Fluoreszenz wie Junktionsnaevi (Abb. 40), demzufolge bereiten sie keine diagnostischen Schwierigkeiten.

Zur Morphologie der Naevi sei lediglich festgehalten, daß sie in Form und Größe sehr regelmäßig erscheinen. Ihr Auftreten in Nestern mit typischer Wanderungstendenz von der Epidermis in tiefer gelegene Gewebsschichten, welcher Vorgang auch als "Abtropfen" bezeichnet wird, dient als weiteres diagnostisches Kriterium.

Das Vorkommen von Naevusriesenzellen, die auch Falck et al. (1966) bereits fluoreszierend darstellen konnte, beschränkte sich bei unseren Präparaten auf coreale Naevi (Abb. 39 und 40). Diese Naevusriesenzellen, die eine besonders intensive Fluoreszenz aufweisen, sind größer als typische Naevuszellen, entsprechen diesen jedoch in ihrer Form.

Mit der Melanin-Pigmentierung verhielt es sich bei den Naevuszellnaevi ebenso wie bei den Melanomen: Während in vielen Präparaten nur wenig oder gar kein Pigment vorhanden war (Abb. 34, 35 und 36), beobachtete man in einigen Präparaten eine übermäßig starke Melanin-Pigmentierung (Abb. 37). Dadurch wurde die Intensität der Fluoreszenz zwar beeinträchtigt, jedoch war diese Beeinträchtigung so gering, daß immer eindeutige Diagnostik betrieben werden konnte.

Über gewisse Gesetzmäßigkeiten im Auftreten von Melanin-Pigment konnten keine Aufschlüsse erzielt werden. Es kann lediglich festgehalten werden, daß coreale Naevi vorwiegend in ihren oberen Anteilen Melanin-Pigment beinhalten.

Im Vergleich zur lichtmikroskopischen Darstellung der Naevuszellnaevi ergab die fluoreszenzmikroskopische Untersuchungsmethode keine Vorteile. Da nur wenige oder gar keine Entzündungszellen nachweisbar sind, ist die lichtmikroskopische Darstellung relativ genau. Maskierungen durch Lymphozyten, wie sie in Melanomen auftraten, wurden nicht beobachtet. Die lichtmikroskopische Darstellung muß in den Fällen, in denen sich der Naevuszellnaevus bereits in tiefen dermalen Bereichen befindet, sogar als das überlegenere Verfahren betrachtet werden, weil durch die nachlassende Fluoreszenz unter Umständen nicht alle Naevuszellen im Fluoreszenzmikroskop erfaßt werden. Ob es sich, wie FALCK et al. 1966 bereits vermuteten, hierbei um eine zunehmende Pigment-Überlagerung handelt, konnte nicht exakt widerlegt werden. Die Wahrscheinlichkeit ist jedoch gering, da gerade in corealen Naevi, die besonders von der nachlassenden Fluoreszenz betroffen sind, nahezu kein Pigment beobachtet wurde.

Vergleicht man die Ergebnisse, die sich aus der Untersuchung der Melanome und der Naevuszellnaevi ergaben, so kann festgestellt werden, daß die Intensität der Fluoreszenz bei den Melanomen durchweg stärker war als bei den Naevuszellnaevi. Der entscheidende Vorteil, den die fluoreszenzmikroskopische Untersuchungsmethode bei der Melanom-Diagnostik jedoch liefert, liegt in dem Auffinden von Tumorzellen in Gewebsbereichen, in denen lichtmikroskopisch keine Veränderungen feststellbar sind. Dieser Vorteil existiert aus den beschriebenen Gründen nicht für die Diagnostik des Naevuszellnaevus.

Sowohl bei der Melanom- als auch bei der Naevuszellnaevus-Darstellung liegt ein weiterer Vorteil der Fluoreszenzmikroskopie darin begründet, daß Basalmembran-Durchbrüche exakt dargestellt werden. Dies ist besonders für die Prognose eines malignen Melanoms von Bedeutung.

Darüberhinaus können mit Hilfe der Formalin-induzierten Fluoreszenz selbst einzelne Zellen und kleine Zellverbände nachgewiesen werden, was ebenfalls eine große Rolle, insbesondere für die Melanom-Diagnostik, spielt.

Die in tieferen Schichten nachlassende Fluoreszenz wirkt sich in der Melanom-Diagnostik nachteilig insofern aus, als einzelne Tumorzellen "übersehen" werden können, wodurch Ungenauigkeiten bei der Festlegung der Eindringtiefe auftreten, jedoch sind diese Ungenauigkeiten immer noch geringer als bei der lichtmikroskopischen Untersuchung.

Bei Untersuchungen des Naevuszellnaevus wirkt sich die nachlassende Fluoreszenz in tieferen Schichten stärker negativ aus, so daß in manchen Fällen die Invasionstiefe besser mit Hilfe des Lichtmikroskops bestimmt werden kann.

Zur Beurteilung der Zellmorphologie eines Melanoms oder eines Naevuszellnaevus ist die Formalin-induzierte Fluoreszenzmethode von unterschiedlichem diagnostischen Wert. Liegen zahlreiche Zellen sehr dicht nebeneinander, so ist die Fluoreszenz so intensiv, daß über die Morphologie einer einzelnen Zelle keine exakten Angaben gemacht werden können. Dies gilt sowohl für Melanome als auch für Naevuszellnaevi. Erst durch eine weniger intensive Fluoreszenz wird die genaue Beurteilung der Zellmorphologie möglich.

In unserem Untersuchungsgut entdeckten wir leider keine Präparate, in denen ein malignes Melanom und ein Naevuszellnaevus gleichzeitig vorhanden waren. Dazu muß festgehalten werden, daß die Gewebeschnitte jeweils als sehr kleine Ausschnitte fixiert werden mußten, so daß man sich von daher nur in seltenen Fällen ein genaues Bild über die gesamte Gewebsveränderung machen konnte.

Darüber hinaus scheint es kaum möglich zu sein, Melanom- und Naevuszellen allein mit dieser Methode sicher voneinander zu trennen, da morphologische Feinheiten oft nicht erkennbar sind, und allein aufgrund der Intensität der Fluoreszenz Melanom- und Naevuszellen nicht immer unterschieden werden können.

5. ZUSAMMENFASSUNG

Mit Hilfe der Formalin-induzierten Fluoreszenzmethode nach FALCK und HILLARP steht ein Untersuchungsverfahren zur Verfügung, das es ermöglicht, genauere Angaben über Morphologie und Invasionstiefe eines malignen Melanoms zu machen.

Darüberhinaus ist die Festlegung der Invasionstiefe, der wesentliche prognostische und therapeutische Bedeutung zukommt, erleichtert, da zum einen Basalmembran-Durchbrüche besser dargestellt werden, zum anderen selbst einzelne Tumorzellen in tieferen Gewebsschichten nachweisbar sind. Dies gilt insbesondere für Tumorzellen im subcutanen Fettgewebe (s. Abb. 12, 13 und 14), die eine noch relativ starke Fluoreszenz aufweisen, wohingegen sie im Haematoxylin-Eosin-Präparat nicht in Erscheinung treten.

Ein weiterer großer Vorteil, der diesem Verfahren zugrunde liegt, ist darin zu sehen, daß Tumorzellen, die im Lichtmikroskop wegen der "Maskierung" durch lymphohistiozytäre Infiltrate oft nicht zur Darstellung kommen, im fluoreszierenden Präparat nachgewiesen werden können.

Die Formalin-induzierte Fluoreszenzmethode kann ebenfalls zur Diagnostik von Naevuszellnaevi herangezogen werden. Auch hierbei lassen sich aufgrund der gut fluoreszierenden Naevuszellen exakte Aussagen über die Zell-Morphologie machen. Auch die nach ihrer Tiefenausdehnung voneinander abzugrenzenden Formen des Naevuszellnaevus lassen sich mit Hilfe der Fluoreszenzmikroskopie voneinander trennen. Mit zunehmender Ein-

dringtiefe wird die Fluoreszenz zwar schwächer, jedoch ermöglicht sie auch in abgeschwächter Form eine hinreichend genaue Diagnostik. Die Abschwächung der Fluoreszenz geht mit einer Verminderung der Melanin-Bildung in tiefen Anteilen einher und scheint sich aus dieser zu erklären.

Im Falle des Naevuszellnaevus besitzt das Lichtmikroskop sicherlich größeren diagnostischen Wert als im Falle des malignen Melanoms, da die lymphohistiozytäre Infiltration fehlt oder nur geringgradig ausgeprägt ist, so daß kaum "Maskierungen" von Naevuszellen durch Lymphozyten beobachtet werden.

6. LITERATUR

BUDDECKE, E.:
Grundriß der Biochemie.
W. de Gruyter-Verlag, Berlin-New York 1977
P. 78

BRESLOW, A., and MACHT, S.D.:
Optimal Size of Resection Margin for Thin Cutaneous Melanoma.
Surg., Gynecol. and Obstet. 145, 691-692 (1977)

BRESLOW, A.:
Thickness, Cross-Sectional Area and Depth of Invasion in the Prognosis of Cutaneous Melanoma.
Ann. Surg. 172, 902-903 (1970)

BRESLOW, A., CASCINELLI, N., VAN DER ESCH, E.P., and MORABITO, A.:
Stage I Melanoma of the Limbs:
Assessment of Prognosis by Levels of Invasion and Maximum Thickness.
Tumori 64, 273-284 (1978)

CLARK, W.-H., FROM, L., BERNADINO, E.-A., and MIHM, M.-C.:
The Histogeneses and Biologic Behaviour of Primary Human Malignant Melanoma of the Skin.
Cancer Res. 29, 705-726 (1969)

EDER, M. und GEDIGK, P. (Hrsg.):
Lehrbuch der allgemeinen Pathologie und der pathologischen Anatomie.
Springer-Verlag, Berlin-Heidelberg-New York 1977, p. 56

FALCK, B., HILLARP, N.-A., THIEME, G., and THORP, A.:
Fluorescence of Catecholamines and Related Compounds with Formaldehyd.
J. Histochem. Cytochem. 10, 348-354 (1962)

FALCK, B., JACOBSSON, S., OLIVECRONA, H., and RORSMAN, A.:
Fluorescent DCPA Reaction of Naevi and Melanomas.
Arch. Derm. (Chic.) 94, 363-369 (1966)

ILLIG, L.:
Fluoreszenzmikroskopische Darstellung pigmentbildender Hauttumoren nach FALCK-HILLARP im Vergleich zu ihrem gewöhnlichen lichtmikroskopischen Bild.
Arch. Derm. Forsch. 249, 51-64 (1974)

KLOSTERMANN, G.-F. und HEITE, H.-J.:
Das Tiefenwachstum des Melanoms in Relation zur Prognose.
Arch. Derm. Forsch. 244, 214-217 (1972)

McGOVERN, V.-J., MIHM jr., M.C., BAILLY, C., BOOTH, J.C., CLARK jr., W.H., COCHRAN, A.J., HARDY, E.G., HICKS, J.D., LEVENE, A., LEWIS, M.G., LITTLE, J.H., and MILTON, G.W.:
The Classification of Malignant Melanoma and its Histologic Reporting.
Cancer 32, 1446-1457 (1973)

MIHM jr., M.C., CLARK jr., W.H., and FROM, L.:
The Clinical Diagnosis, Classification, and Histogenic Concepts of the Early Stages of Cutaneous Malignant Melanoma.
New Engl. J. Med. 284, 1078-1082 (1971)

MORISHIMA, T., and ENDO, M.:
Pigmented Nevus Devided between Recipient and Donor Sites by Intermediate Skin Grafting Procedure: A Study with Fluorescence Method (FALCK and HILLARP).
Acta dermato-venereol. (Stockh.) 58, 231-235 (1978)

PAUL, E. und HARTWIG, H.G.:
Beeinflussung von Emissionsspektren biogener Amine durch intrazelluläre Pigmente. Mikrofluorometrische Studien an pigmentbildenden Zellen der Haut.
70. Vers. Anat. Ges. Düsseldorf 1975

PAUL, E. und ILLIG, L.:
Eine neue Methode zur feineren Melanomdifferenzierung.
Fortschr. Med. 30, 1488-1492 (1975)

PAUL, E. und ILLIG, L.:
Fluorescence-Microscopic Investigations of Pigment Cells of Lentigo Maligna and Lentigo Maligna Melanoma.
Arch. Derm. Res. 256, 179-187 (1976)

REED, R.J.:
New Concepts in Surgical Pathology of the Skin.
J. Wiley & Sons, New York 1976

SCHMOECKEL, C., und BRAUN-FALCO, O.:
Prognostic Index in Malignant Melanoma.
Arch. Derm. 114, 871-873 (1978)

D A N K S A G U N G

Herrn Prof. Dr. Dr. A. GREITHER, ehemaliger Direktor der Hautklinik der Universität Düsseldorf, danke ich für die mir gebotene Möglichkeit, diese Arbeit an seiner Klinik durchzuführen.

Herrn Prof. Dr. R. HAENSCH danke ich für die Überlassung des Themas, für die vielfältigen Anregungen sowie für die Hilfestellung bei der Abfassung der Dissertationsschrift.

Frau Christa BIERLING, medizinisch-technische Assistentin an der Hautklinik der Universität Düsseldorf, danke ich für die Herstellung der Präparate.

L E B E N S L A U F

Name:	Helga Röttgen
Geburtstag:	4.3.1957
Geburtsort:	Kettwig
Eltern:	Luise und Wilhelm Röttgen
Ostern 1963:	Einschulung in die Gemeinschaftsschule Kettwig
1966-1975:	Theodor-Heuss-Gymnasium Kettwig Hier Abitur 1975
April - September 1976:	Beginn des Studiums der Zahnmedizin an der Universität Kiel
Oktober 1976 - Mai 1981:	Studium der Zahnmedizin an der Universität Düsseldorf Hier Staatsexamen 1981